

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

M^{lle} Nicole MAYER

"Contrôle endocrinien de l'osmorégulation
chez les Téléostéens.
Rôle de l'axe hypophyse-interrénale et de la prolactine."

Soutenue le 20 février 1970, devant la commission d'examen

M. JOST

Président

M. MOREL

M. MAETZ

M. COURSAGET

} Examineurs

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

M^{lle} Nicole MAYER

"Contrôle endocrinien de l'osmorégulation
chez les Téléostéens.
Rôle de l'axe hypophyse-interrénale et de la prolactine."

Soutenue le 20 février 1970, devant la commission d'examen

M. JOST

Président

M. MOREL

M. MAETZ

M. COURSAGET

} Examineurs

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES

PAR

M. NICOLAS MAÏER



Rôle de l'axe hypothèse-internale et de la prolactine.
chez les Téléostéens.
Contrôle endocrinien de l'osmorégulation

Soutenue le 20 février 1970 devant la commission d'examen

Président

M. JOST

Examinateurs

M. MOREL

M. MAÏER

M. COURAGET

Contrôle endocrinien de l'osmorégulation chez les Téléostéens. Rôle de l'axe hypophyse-interrénal et de la prolactine.

Par N. MAYER *

RÉSUMÉ :

La balance minérale du sodium est étudiée à l'aide des techniques isotopiques. Les effets de l'hypophysectomie et d'un traitement à la prolactine sont comparés chez *Fundulus heteroclitus* et *Anguilla anguilla*. L'hypophysectomie entraîne : en eau douce, une perte branchiale excessive ; en eau de mer, une diminution de l'intensité des échanges. En eau douce, la prolactine restaure l'imperméabilité branchiale et permet la survie des *Fundulus*. Le rôle de l'axe hypophyse-interrénal est étudié chez l'Anguille. En eau de mer : l'A.C.T.H. et le cortisol restaurent l'intensité des échanges diminuée après hypophysectomie ; l'interrénalectomie provoque une hyperminéralisation, une réduction de la fraction renouvelée et la mort des animaux. Le cortisol permet la survie en ramenant ces paramètres à un niveau normal. Les divers organes-cibles et le mode d'action des hormones ainsi que leur intégration dans les boucles osmorégulatrices sont discutés.

SUMMARY :

The mineral balance is studied with isotopic techniques. The effects of hypophysectomy and of replacement therapy with prolactin are compared in *Fundulus heteroclitus* and *Anguilla anguilla*. Hypophysectomy results in fresh water in excessive branchial salt loss and in sea water in a reduction of the sodium turnover rate. In freshwater, prolactin promotes branchial impermeability to salt and permits survival of *Fundulus*.

The role of the hypophysial-interrenal axis is studied in the eel. In sea water, ACTH and cortisol bring to sodium turnover rate back to normal in hypophysectomized animals. Interrenalectomy is followed by hypermineralization, reduction of the sodium turnover rate and death. Cortisol promotes survival by bringing back these parameters to normal.

The target-organs and the mode of action of the various hormones are discusses together with the integration of these observations in the osmoregulatory loops of fish.

En 1951, Callamand écrivait : « Le problème de l'intervention des glandes endocrines dans l'osmorégulation chez les poissons est à peine posé. » (Callamand *et al.*, 1951).

Depuis, un important travail s'est accumulé dans plusieurs laboratoires sur ce sujet. Quels sont les moyens d'envisager logiquement ce puzzle à trois éléments complexes : osmorégulation - endocrinologie - poissons ? La façon la plus empirique de l'aborder est de dénombrer les glandes des poissons qui interviennent dans les problèmes d'osmorégulation. Cependant, cette recherche doit s'accompagner d'une certaine prudence car :

1° les glandes endocrines chez les poissons n'ont pas toujours leurs homologues chez les mammifères qui sont souvent, *à priori*, notre point de référence ;

2° des glandes considérées comme identiques peuvent sécréter des hormones différentes ;

3° une même hormone peut être présente chez tous les vertébrés et posséder des propriétés chimiques et biologiques variées, liées en particulier au développement d'organes effecteurs dont les fonctions sont originales.

* Groupe de biologie marine du Département de Biologie du C.E.A., Station Zoologique, 06-Villefranche-sur-Mer.

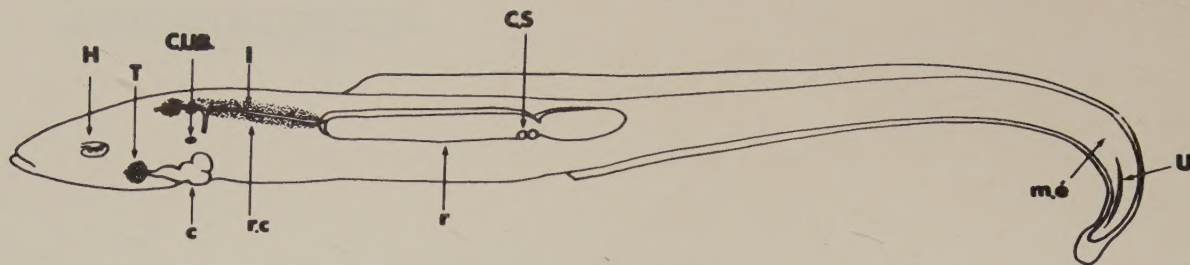


FIG. 1. — Emplacement des glandes endocrines ayant éventuellement un rôle osmorégulateur.

H = hypophyse ; T = thyroïde ; C.U.B. = Corps Ultimo-Branchiaux ; I = Interrénal ; Cs = Corpuscules de Stannius ; U = Urophyse. (c = cœur ; r.c. = rein céphalique ; r = rein ; m.é. = moëlle épinière.)

A) Aperçu sur le système endocrinien des poissons et ses relations avec l'osmorégulation.

La figure 1 regroupe les glandes endocrines supposées avoir un rôle osmorégulateur chez les poissons. Nous allons expliciter le choix que nous avons fait parmi elles.

— *L'hypophyse*. On peut y distinguer deux parties, la neurohypophyse et l'adénohypophyse intimement intriquées chez les téléostéens. Deux principes ont été caractérisés à partir des extraits de neurohypophyses de poissons téléostéens : l'isotocine (Acher, Chauvet, Chauvet et Crépy, 1962, 1965, 1968) et l'arginine-vasotocine (Acher, Chauvet, Chauvet et Crépy, 1961, 1965 et 1968 ; Heller et Pickering, 1961). Comme l'ont montré les travaux de Maetz *et al.* (1964), Motais et Maetz (1964), Sawyer (1966), ces hormones jouent un rôle dans le métabolisme hydrominéral des poissons. Cependant nous avons considéré leur action comme mineure car aucune d'elles ne permet à des animaux hypophysectomisés, qui devraient mourir en eau douce, de survivre. Au contraire, les hormones adénohypophysaires jouent un rôle capital dans les problèmes d'osmorégulation. En effet, depuis Burden (1956) on sait que *Fundulus heteroclitus* placé en eau douce meurt après ablation de l'hypophyse. Pickford et Phillips (1959) et Pickford *et al.* (1965) ont montré que, de toutes les hormones hypophysaires, « la prolactine », et elle seule, peut remplacer l'hypophyse et permettre la survie en eau douce chez cette espèce. Remarquons que les hormones adénohypophysaires n'ont pas été isolées chez les poissons. Les principes actifs seront par conséquent appelés « hormones-like » car les observations chez ces derniers consistent souvent, à la suite de l'ablation, en une thérapeutique restitutive réalisée grâce aux hormones mammaliennes connues. Depuis ces premières observations, d'autres téléostéens euryhalins, appartenant pour la plupart à la même famille que *Fundulus*, se sont montrés incapables de survivre en eau douce après hypophysectomie ; citons : *Xiphophorus* (Schreibman et Kallman, 1966) ; *Paecilia latipinna* (Ball et

Olivereau, 1964 ; Ball et Endors, 1965) ; *Tilapia mossambica* (Dharmamba *et al.*, 1967). La prolactine mammalienne est, également chez ces espèces, l'hormone qui permet la survie des poissons en eau douce après ablation de l'hypophyse. Par contre, pour d'autres téléostéens euryhalins, l'hypophysectomie n'entraîne pas la mort quel que soit le milieu dans lequel ils sont maintenus : c'est le cas du genre *Anguilla* (Fontaine *et al.*, 1949 ; Butler, 1966 et Hirano, 1967) et des salmonidés (Donaldson et McBride, 1967).

Ainsi la présence de l'hypophyse chez des poissons maintenus en eau douce paraît vitale pour les uns et de moindre importance pour les autres. Aussi l'étude comparée d'un poisson de chaque type, intact, après hypophysectomie accompagnée ou non d'un traitement à la prolactine, devait être potentiellement riche en informations. A partir d'elle, on pouvait espérer trouver l'explication de la différence de comportement des poissons hypophysectomisés placés en eau douce. Rappelons que les résultats obtenus pour la mesure des transports d'électrolytes après ablation et traitement hormonal confirment l'intérêt d'une étude comparée puisque, dans tous les cas, un déséquilibre minéral a été observé. Notons par exemple qu'après hypophysectomie, *Fundulus heteroclitus* présente une chlorémie et une pression osmotique anormalement basses quand il est placé en eau douce (Burden, 1956 ; Pickford *et al.*, 1965). De même, si l'anguille ne meurt pas en eau douce après ablation de l'hypophyse, on n'en observe pas moins des modifications des concentrations plasmatiques (Butler, 1966 ; Olivereau et Chartier-Baraduc, 1966).

Des autres hormones hypophysaires, la thyrostimuline T.S.H. intervient probablement aussi dans la régulation minérale (Hickman, 1959) mais l'axe hypophysothyroïdien ne semble pas être aussi primordial dans les régulations osmotiques. Par contre, la cortico-stimuline et l'axe hypophyso-interrénalien nous ont semblé constituer un système très important dans la régulation osmotique par analogie avec la part prépondérante qu'ils jouent

dans le métabolisme minéral chez les mammifères. La surrénalectomie chez les mammifères est une ablation produisant un déséquilibre minéral tel, qu'elle provoque la mort si un régime alimentaire ne vient compenser les pertes excessives. Chez les poissons euryhalins, dont les conditions d'équilibre minéral sont si différentes selon la salinité du milieu externe, on peut s'attendre à des conséquences plus ou moins graves à la suite de l'ablation de l'hypophyse ou de l'interrénal. Une hormone de type corticotrophine semble être présente dans l'hypophyse des poissons, stimulant l'interrénal de la même façon que l'hormone mammalienne (Rasquin, 1951). Fontaine et Hatey (1953) ont montré que l'interrénal atrophié chez l'anguille après hypophysectomie pouvait être stimulé par l'hormone de mammifères. Par ailleurs, chez *Gambusia*, Chambolle (1967) a montré que l'A.C.T.H. était aussi efficace que la prolactine pour assurer la survie en eau douce des animaux hypophysectomisés.

— *L'interrénal*. Cette glande est présente chez tous les poissons mais les extractions montrent qu'elle sécrète des hormones qui sont essentiellement des « gluco-corticoïdes » (selon la définition mammalienne). La présence de « minéralo-corticoïdes », en particulier d'aldostérone est très controversée. Cet axe hypophyso-interrénalien s'est avéré capital puisque, comme nous avons eu l'occasion de le démontrer, l'ablation totale de l'interrénal entraîne, dans les 48 heures, la mort des anguilles opérées, si elles sont conservées en eau de mer. Ce point retiendra notre attention dans la deuxième partie de l'exposé.

— *Les Corpuscules de Stannius*. Bien définis anatomiquement, leur ablation ne met pas en jeu la vie du poisson ; c'est pourquoi nous avons provisoirement écarté leur étude bien que la stanniectomie s'accompagne de modifications ioniques du plasma, en particulier du calcium et des phosphates (Fontaine, 1964, 1967 ; Chan, 1969).

— *L'urophyse*. Sans équivalent chez les mammifères, c'est un organe hémoneural caudal dont la morphologie rappelle le système hypothalamo-neuro-hypophysaire. Maetz *et al.* (1964), Chester Jones *et al.* (1969) ont mis en évidence l'action des extraits de cette glande sur les échanges de sodium entre le poisson et son milieu. Cependant son rôle semble d'importance secondaire car, en aucun cas, l'ablation ne met en jeu la survie des poissons.

— *La thyroïde*. Son action serait directe ou indirecte selon les auteurs et porterait sur le renouvellement de l'eau (Hoar, 1957) ou sur le métabolisme des phosphates (Fontaine, 1967).

— *Les corps ultimo-branchiaux*. Rasquin et Rosebloom (1954) les considèrent comme homologues des glandes parathyroïdes, Pearse et Carvalheira (1967) les considèrent comme l'équivalent

des cellules « c » de la thyroïde. Nous ne nous sommes pas occupés de ce problème qui semble lié au métabolisme du calcium.

Il est bien évident que tous les problèmes endocriniens relatifs à l'osmorégulation n'ont pu être abordés. Nous nous sommes intéressés aux glandes ayant un rôle capital, pour lesquelles l'ablation constitue une question de vie ou de mort pour le poisson et qui sont en relation avec des perturbations importantes de l'osmorégulation. Les résultats qui vont être exposés ne constituent qu'une étape dans l'ensemble d'un travail en cours dans différents laboratoires avec lesquels nous nous sommes associés pour éclaircir certains points. Nous avons sélectionné parmi les problèmes qui ont été abordés ceux qui ont abouti aux conclusions les plus intéressantes :

— Rôle de l'hypophyse et de la prolactine dans la régulation de la balance minérale chez *Fundulus heteroclitus* et *Anguilla anguilla*.

— Rôle de l'axe hypophyse-interrénal dans la régulation de la balance minérale chez l'anguille.

B) Matériel biologique et techniques choisis.

1. Choix du matériel biologique.

Les poissons euryhalins qui peuvent vivre indifféremment en eau de mer ou en eau douce constituent un matériel d'étude particulièrement favorable. En effet, comme ils supportent des variations de salinité importantes, il est probable que l'adaptation s'accompagne soit d'une mise en route de sécrétions hormonales, soit d'un tarissement ou d'une inhibition des hormones présentes. Ainsi, Motais (1967) a montré que dans les mécanismes qui président à l'adaptation des poissons euryhalins après transfert d'eau de mer en eau douce, il y avait toujours une « régulation différée » apparaissant une demi-heure après le changement de milieu. Cette régulation différée peut n'être qu'un réajustement complémentaire à une régulation dite « instantanée » qui assure l'essentiel de la réduction du flux sortant, comme c'est le cas pour l'anguille ; ou bien elle peut seule assurer l'euryhalinité du poisson, comme c'est le cas pour *Fundulus heteroclitus*, chez qui la régulation instantanée est très faible. La régulation instantanée serait redevable d'un mécanisme de « diffusion par échange » où flux entrant et flux sortant sont couplés et proportionnels à la concentration du sodium dans le milieu extérieur, tandis que la régulation différée résulterait de la mise en jeu de boucles régulatrices faisant intervenir des glandes endocrines. Ces observations chez les animaux intacts permettent de penser que les mécanismes de base, assurant l'équi-

libre minéral chez ces deux types de poissons, présentent une différence capitale. Comme *Anguilla anguilla* et *Fundulus heteroclitus*, en plus des différences dans les mécanismes osmorélateurs, présentent également des différences de comportement après hypophysectomie, nous nous sommes tenus à l'étude de ces deux poissons euryhalins. Ce sont par ailleurs des poissons commodes pour le travail de laboratoire. *Fundulus* est très commun près des côtes américaines et nos anguilles proviennent pour la plupart de Camargue où elles sont pêchées en abondance*. L'anguille est, en particulier, un matériel biologique de choix car elle se prête à de multiples opérations chirurgicales : hypophysectomie (Fontaine *et al.*, 1949), interrénalectomie (Chester Jones *et al.*, 1964), stanniectomie (Vargas et Concha, 1957) et mise en place de multiples cathéters intravasculaires**.

2. Précisions sur l'interrénalectomie.

a) Interrénalectomie chirurgicale.

L'ablation, réalisée selon la technique de base mise au point par Chester Jones *et al.* (1964) a été complétée comme suit : d'une part, les veines cardinales antérieures, dont les parois sont riches en tissu interrénalien, ont été supprimées ; d'autre part, les veines cardinales postérieures ont été enlevées le plus loin possible vers l'arrière. La veine cardinale postérieure droite a été remplacée par un cathéter en polyvinyle assurant le retour du sang veineux vers le cœur.

Le contrôle histologique de l'intégralité de l'ablation fait l'objet d'une étude détaillée par Olivereau et Olivereau (1968) que nous remercions.

b) Interrénalectomie pharmacologique.

L'interrénalectomie par voie pharmacologique peut être réalisée, d'après les études sur les mammifères soit par la métopirone, soit par l'aldactone. La première substance (associée à la β méthasone) bloque la stéroïdogénèse. Chan *et al.* (1967) ont montré qu'un tel traitement produisait chez l'anguille, une diminution de la concentration plasmatique du sodium. Butler *et al.* (1969) ont montré qu'après traitement à la dexaméthasone, la concentration du cortisol circulant se trouve diminuée mais elle n'est pas nulle, ce qui prouverait que la glande reste active car une sécrétion extra-interrénalienne semble exclue. La seconde subs-

tance, l'aldactone (qui interfère au niveau de l'action périphérique de l'aldostérone), produirait, selon Olivereau et Chartier-Baraduc (1965), une diminution de la concentration plasmatique du sodium chez les anguilles adaptées à l'eau douce. Mais la signification physiologique de cet effet est douteuse car l'aldostérone n'est pas une hormone naturelle chez ce poisson.

3. Techniques isotopiques.

Des techniques éprouvées depuis plusieurs années dans notre laboratoire (Maetz, 1956 ; Motais et Maetz, 1964-1965 ; Motais, 1967...) nous ont fourni un outil de travail simple et précis nous permettant d'étudier et de comprendre les modifications osmorélatrices chez un animal aquatique. Les isotopes radioactifs introduits dans le milieu extérieur ou intérieur nous permettent, en effet, une étude quantitative des échanges qui ont lieu entre l'organisme et son milieu. Comme le sodium est un des ions prépondérants du milieu intérieur, dont les fluctuations contribuent pour une grande part aux modifications de la pression osmotique, nous avons abordé l'osmorégulation à travers la régulation des échanges de sodium. Nous avons utilisé pour cela deux isotopes ^{24}Na et ^{22}Na facilement maniables. Ces techniques nous ont permis d'étudier à court terme ou à long terme l'influence des glandes endocrines sur les échanges, dans le cas particulier des problèmes d'osmorégulation chez les poissons.

I. ROLE DE L'HYPOPHYSE ET DE LA PROLACTINE DANS LA RÉGULATION DE LA BALANCE MINÉRALE CHEZ *FUNDULUS HETEROCLITUS* ET *ANGUILLA ANGUILLA*

Le contrôle hypophysaire de l'osmorégulation chez *Fundulus heteroclitus*, poisson euryhalin, fut d'abord suggéré par Pickford (1953). Cet auteur a remarqué que les animaux hypophysectomisés et placés en eau douce ne survivent pas, alors que les mêmes poissons opérés peuvent vivre indéfiniment en eau de mer. Burden (1956) a réalisé les expériences décisives expliquant cette défaillance. Il a montré que l'incapacité à survivre dans un milieu hypotonique peut être associée à une chute de la chlorémie. Pickford *et al.* (1965) ont montré qu'il se produit parallèlement une chute de la

* Nous remercions M. Coustellier pour les facilités qu'il nous a offertes en nous procurant, à volonté, les anguilles de Camargue.

** L'hypophysectomie des *Fundulus* que nous avons utilisés a été réalisée par les soins du Docteur G. Pickford que nous remercions. Chez l'anguille nous avons appris à pratiquer toutes les opérations - hypophysectomie - interrénalectomie - stanniectomie - soit au laboratoire du Professeur Fontaine, soit au laboratoire du Professeur Chester-Jones, que nous remercions également.

pression osmotique. Or, l'abaissement de la pression osmotique du plasma, qui peut atteindre 60 % du taux initial, ne saurait être expliqué par une rétention hydrique puisque l'augmentation du poids des animaux, en eau douce, au moment de la mort, n'est que de 5 % (Burden, 1956 ; Pickford *et al.*, 1965). C'est donc très probablement un dérèglement de la balance minérale qui provoque la mort.

Au contraire, la survie d'*Anguilla anguilla* dans l'un ou l'autre milieu ne semble pas être affectée par l'ablation de l'hypophyse (Fontaine *et al.*, 1949 ; Callamand *et al.*, 1951). L'opération ne s'accompagne que d'une diminution lente et relativement limitée de la concentration du sodium plasmatique (Chester Jones *et al.*, 1965 ; Olivereau et Chartier-Baraduc, 1966).

Dans le présent exposé, nous essaierons de confronter les bilans des échanges ioniques au niveau des branchies chez ces deux poissons euryhalins, d'abord quand ils sont intacts, puis à la suite de l'hypophysectomie suivie ou non d'un traitement à la prolactine.

Dans ces différents cas, les animaux ont été étudiés en eau de mer, en eau douce et au cours du transfert d'eau de mer en eau douce.

Les détails techniques et expérimentaux de ces manipulations sont développés dans deux publications (Maetz *et al.*, 1967a et b).

A) Etude comparée de la balance minérale chez les animaux intacts.

1. Animaux adaptés à l'eau de mer.

a) Concentration plasmatique du sodium.

La concentration du sodium, mesurée dans l'eau de mer des bacs de réserve où sont conservés les poissons, est de 500 mEq/l. La concentration plasmatique du sodium, mesurée sur des échantillons de sang prélevés par ponction caudale, a été trouvée égale à : $155,0 \pm 3,9$ mEq/l chez l'anguille ($n=8$), et à : $150,9 \pm 3,0$ mEq/l chez *Fundulus* ($n=14$).

b) Mesure de l'intensité des échanges.

La mesure indirecte de l'intensité des échanges de sodium entre le poisson et son milieu est illustrée par la figure 2 (courbes en points noirs). Les animaux reçoivent* une quantité adéquate de ^{24}Na et sont placés dans un volume constant d'eau de mer. Le poisson échange indifféremment sodium 24

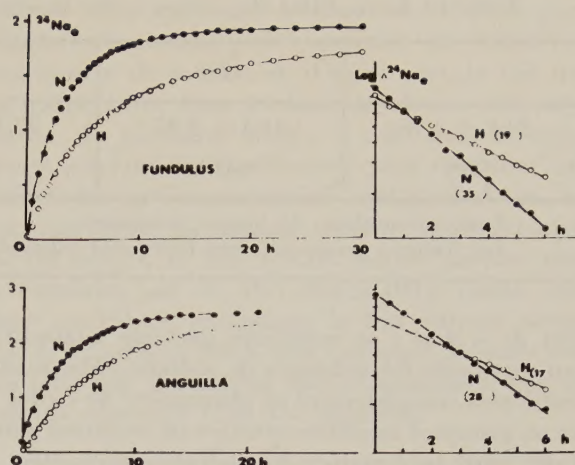


FIG. 2. — Mesure de la fraction renouvelée de sodium échangeable chez *Fundulus heteroclitus* et *Anguilla anguilla* adaptés à l'eau de mer.

A gauche : quantité de ^{24}Na apparue dans le milieu externe (en ipm $\times 10^4$) en fonction du temps en heures.

A droite : analyse graphique des courbes expérimentales. Les poissons étudiés normaux (●) et hypophysectomisés (○) de même poids ont reçu la même dose de ^{24}Na et sont placés dans le même volume d'eau de mer. Dans ces conditions, les deux courbes d'apparition tendent vers le même équilibre, mais les vitesses d'apparition sont différentes. Les pentes des droites obtenues par l'analyse graphique sont directement proportionnelles aux fractions renouvelées par heure et sont exprimées en pourcentage de la masse de sodium échangeable.

et sodium 23 et la courbe d'apparition du sodium dans le milieu externe (en ipm $\times 10^4$) est une exponentielle. L'analyse en échelle semi-logarithmique fait apparaître une droite dont la pente est directement proportionnelle à la fraction de sodium renouvelée par heure. Celle-ci est exprimée en un pourcentage de la masse de sodium échangeable (voir Motais et Maetz, 1965 et Motais, 1967). D'après ce graphique, la fraction horaire renouvelée dans le cas de l'anguille est de 28 %, celle du *Fundulus* est de 35 %. L'étude statistique de deux séries d'animaux accoutumés aux aquariums de mesure et manipulés quotidiennement donne :

$29,8 \pm 2,61$ % pour 8 anguilles intactes placées de puis huit jours dans les aquariums ;

$27,3 \pm 1,41$ % pour 15 *Fundulus* intacts placés depuis quatre-vingt-neuf jours en aquariums. Tel n'est pas le cas quand les mesures sont effectuées sur des animaux récemment mis en place.

En effet, la fraction renouvelée, mesurée le premier jour de la mise en aquarium, chez 20 anguilles est de $32,8 \pm 2,76$ % ; de même chez 26 *Fundulus*, conservés moins de trois jours en aquarium, elle est de $34,9 \pm 1,34$ %. Ces deux espèces seraient donc sensibles aux perturbations maximales que constituent pour elles les différentes manipulations indispensables au début d'une expérimentation. Cet

* Par voie intrapéritonéale.

TABLEAU I. — Effet de « choc » sur la vitesse de renouvellement de l'anguille en eau de mer

J_0	J_1	J_2	J_3	J_4
$32,8 \pm 2,76$	$41,4 \pm 3,95$	$27,3 \pm 1,85$	$28,6 \pm 1,66$	$29,8 \pm 2,61$
(20)	(16)	(12)	(4)	(8)

Entre parenthèses : le nombre d'animaux.
Les fractions renouvelées par heure sont exprimées en pourcentage de la masse de sodium échangeable.

effet de « choc » se manifeste par une augmentation spontanée des échanges de sodium. Nous avons étudié plus complètement ce phénomène de « choc » sur un groupe d'anguilles intactes en mesurant jour après jour la fraction de sodium renouvelée à partir de la première injection et de leur mise en place dans un aquarium de volume restreint. Le Tableau I illustre les résultats obtenus. Il montre que les échanges sont intensifiés spontanément pendant les deux premières journées puis se stabilisent au niveau que l'on retrouve huit jours après le début des mesures et dont nous avons donné la valeur moyenne. Il faut deux à trois jours pour « préparer » les animaux ; cette précaution est indispensable pour étudier, par exemple, les effets des injections d'hormones sur l'intensité des échanges. Chez *Fundulus* nous avons également remarqué que les échanges sont augmentés de façon très importante en réponse à un choc. Ainsi, un *Fundulus* dont le taux de renouvellement était de 30 % le sixième jour de manipulation a été malencontreusement blessé ; le lendemain de cet incident le taux de renouvellement mesuré chez ce poisson fut de 53 %. Nous pouvons donc affirmer qu'en eau de mer, quand les animaux ne sont pas perturbés, les échanges de sodium entre le poisson et son milieu sont du même ordre de grandeur pour *Fundulus* et *Anguilla* et portent sur environ un tiers de la masse de sodium échangeable.

Mesure des flux sortants. Une autre façon simple d'apprécier les échanges qui s'effectuent entre le poisson et son milieu consiste à mesurer directement les flux sortants de sodium (Maetz, 1964 ; Motais, 1967). Les poissons reçoivent une quantité adéquate de sodium 24 et sont placés dans un volume connu constant d'eau de mer pendant un temps court (1 à 2 heures). Le flux sortant s'obtient en divisant la radioactivité totale libérée dans l'aquarium par la radioactivité spécifique du plasma. Celle-ci est déterminée à partir d'un échantillon de sang prélevé en fin d'expérience par ponction caudale.

Le flux sortant s'exprime en μEq de Na par heure et pour 100 g de poisson. Pour des anguilles d'un poids moyen de 100 g nous avons trouvé par cette technique de courte durée (1 heure ou 2) un flux sortant d'environ $1\,310 \mu\text{Eq/h/100 g}$, ce qui correspond à une fraction renouvelée de so-

dium échangée par heure de 34 %. Chez *Fundulus* la moyenne mesurée est de $2\,020 \mu\text{Eq/h/100 g}$, ce qui correspond à une fraction renouvelée de 50 %. Remarquons que la mesure des flux sortants correspond à des conditions expérimentales pour lesquelles les poissons sont « choqués » et que par conséquent la mesure des flux sortants se trouve toujours être surestimée.

Nous pouvons cependant conclure que chez ces deux poissons euryhalins adaptés à l'eau de mer, les échanges de sodium qui existent entre le milieu intérieur et le milieu extérieur sont importants. Aucune différence entre eux ne peut être mise en évidence quand ils sont adaptés à l'eau de mer.

2. Animaux adaptés à l'eau douce.

a) Concentration plasmatique du sodium.

Les anguilles et les *Fundulus* ont été conservés dans des bacs de réserve en eau douce courante dont la concentration en sodium est inférieure à $0,2 \text{ mEq/l}$. La concentration plasmatique du sodium, mesurée chez 7 *Fundulus* adaptés à l'eau douce, a été trouvée égale à : $148,4 \pm 2,71 \text{ mEq/l}$, non significativement différente de celle obtenue chez les animaux conservés en eau de mer ($150,9 \pm 3,0 \text{ mEq/l}$; $n = 14$). La concentration plasmatique du sodium chez les animaux intacts et adaptés à leur milieu est donc indépendante de la salinité de ce dernier. Chez l'anguille, par contre, l'homéostasie semble moins absolue. Nous avons observé une différence significative entre les animaux adaptés à l'eau douce et ceux adaptés à l'eau de mer. Ainsi, pour deux groupes de 25 anguilles, nous avons trouvé respectivement une concentration plasmatique du sodium de $130,2 \pm 2,4 \text{ mEq/l}$ pour les anguilles conservées en eau douce et de $146,9 \pm 2,3 \text{ mEq/l}$ pour les anguilles conservées en eau de mer. Par ailleurs, chez l'anguille, nous avons montré (Mayer et Nibelle, 1969) que « les espaces de distribution » des ions sodium sont significativement différents selon que les animaux sont conservés en eau douce ou en eau de mer. Les masses de sodium échangeable sont donc très différentes selon la salinité du milieu extérieur.

Ce premier examen des concentrations plasmatiques du sodium chez les animaux adaptés à l'eau

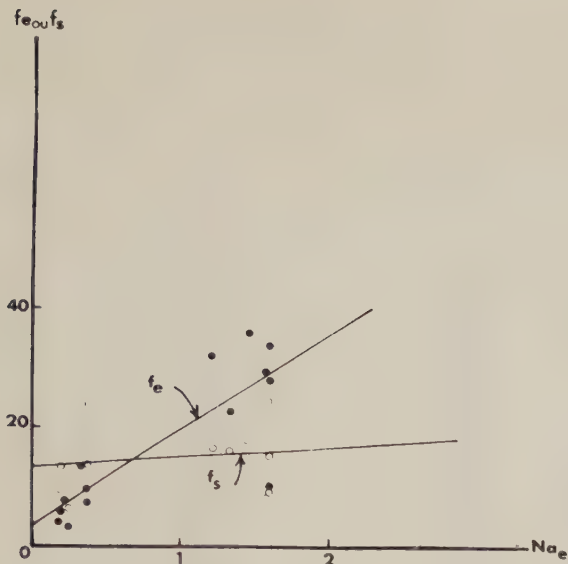


FIG. 3. — Variation des flux, entrant (f_e) ou sortant (f_s) de sodium en fonction de la concentration du sodium externe chez *Fundulus heteroclitus* intacts, adaptés à l'eau douce.
● flux entrant
○ flux sortant exprimés en $\mu\text{Eq/h/100 g}$.
La concentration du sodium externe est exprimée en mEq/l .

douce fait apparaître une différence entre les deux espèces de poissons.

b) Mesure des flux unidirectionnels.

L'étude comparée de la balance minérale est rendue difficile par le fait que les conditions expérimentales ne sont pas les mêmes, en particulier en ce qui concerne la concentration du sodium dans les aquariums pendant la durée des expériences. Les flux unidirectionnels sont mesurés : f_e , de façon directe par la disparition du ^{24}Na introduit dans le milieu externe ; f_s , par différence entre le flux net (mesuré par les variations de la concentration du sodium total dans le milieu externe) et le flux entrant précédemment mesuré.

Chez *Fundulus* : la figure 3 représente les variations d'intensité des flux en fonction de la concentration du sodium externe chez *Fundulus*. On constate que le flux sortant global est relativement constant tandis que le flux entrant est proportionnel à la concentration du sodium externe, la corrélation entre les deux variables étant très significative. Le point d'intersection entre la droite F_e et la droite F_s correspond à la concentration « critique » pour laquelle la balance minérale se trouve équilibrée. Cette valeur est de $0,7 \text{ mEq/l}$. Or, la concentration dans les bacs de réserve où sont conservés les poissons, est de l'ordre de $0,1$ à $0,2 \text{ mEq/l}$, c'est-à-dire que les poissons devraient être en permanence en balance négative. Ceci n'est probablement pas le cas puisque leur natrémie n'est pas différente de celle des animaux adaptés à l'eau de mer. Deux possibilités permettent d'ex-

pliquer cette apparente contradiction : d'une part, l'apport alimentaire peut constituer une source non négligeable de sodium et, d'autre part, le fait que la température dans les bacs de réserve soit supérieure, de plusieurs degrés, à celle qui est maintenue pendant les expériences, peut entraîner une baisse de la concentration critique. Pour des concentrations du sodium externe approximatives de $0,2 \text{ mEq/l}$, le flux sortant moyen mesuré chez 4 *Fundulus* est de $10,7 \mu\text{Eq/h/100 g}$ tandis que, dans ces mêmes conditions, le flux entrant moyen est de $5,5 \mu\text{Eq/h/100 g}$. Ces quelques poissons sont les seuls qui permettent une comparaison avec les valeurs mesurées chez les anguilles.

Chez l'anguille : en effet, pour ces dernières, la gamme de concentration du sodium externe étudiée a été beaucoup plus restreinte et presque toujours inférieure à $0,2 \text{ mEq/l}$. Le flux sortant est de $4,3 \mu\text{Eq/h/100 g}$ ($n = 15$), donc beaucoup plus faible que celui mesuré chez les *Fundulus*, et non significativement différent du flux entrant qui est de $4,0 \mu\text{Eq/h/100 g}$ ($n = 15$). Ce dernier n'est pas non plus différent du flux entrant mesuré chez les *Fundulus* dans les mêmes conditions de salinité externe. Aux concentrations de sodium où elles sont conservées, les anguilles se trouvent donc dans la marge de concentration du sodium externe pour laquelle leur balance minérale est équilibrée.

En conclusion, il apparaît que les capacités d'absorption des ions sodium sont identiques chez les deux espèces de poissons lorsque la concentration en sodium externe est de $0,2 \text{ mEq/l}$. Les flux entrants, actifs, sont comparables alors que les flux sortants, passifs, sont différents.

On peut se demander si la présence d'un flux sortant plus élevé chez *Fundulus* ne traduit pas, chez cette espèce, une tendance à la déminéralisation en milieu hypotonique.

3. Animaux transférés d'eau de mer en eau douce.

a) Concentrations plasmatiques.

À la suite du transfert de l'animal d'eau de mer en eau douce les concentrations plasmatiques du sodium n'évoluent pas de façon semblable chez *Fundulus heteroclitus* et chez *Anguilla anguilla* (voir étude comparée de la natrémie au cours des changements de milieu dans Maetz, dans les précédents B.I.S.T.). Chez *Fundulus* on assiste à une diminution de grande amplitude suivie d'une remontée vers un niveau comparable à celui que présentent les animaux adaptés à l'eau de mer. Chez l'anguille par contre, la diminution est beaucoup plus faible et continue ; la concentration tend vers celle des animaux adaptés à l'eau douce (différente de celle des animaux adaptés à l'eau de mer).

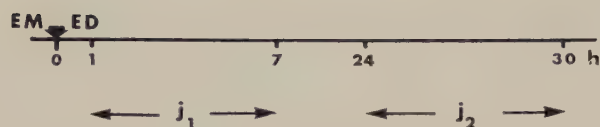


FIG. 4. — Différentes périodes de mesures des flux.
 0 → 1 = première heure après le transfert d'eau de mer en eau douce. Mesure du flux sortant seul.
 J_1 = premier jour en eau douce. Mesure des flux unidirectionnels.
 J_2 = deuxième jour en eau douce. Mesure des flux unidirectionnels.

b) Mesure des flux unidirectionnels.

Nous avons constaté que *Fundulus* et anguilles intacts, adaptés à leur milieu, présentent en eau de mer, un taux d'échange du sodium analogue, alors qu'en eau douce, pour un flux entrant égal, *Fundulus* accuse un flux sortant deux fois plus important que l'anguille. Il est donc nécessaire de rechercher les similitudes et les différences qui existent dans les mécanismes de régulation de l'équilibre ionique chez les animaux intacts au cours de leur transfert d'eau de mer en eau douce. Pour simplifier, l'étude du changement de milieu a été découpée en trois phases, selon une échelle de temps indiquée par la figure 4.

Première heure après changement de milieu. Motais (1967) a signalé les différences capitales qui existent entre les deux espèces de poissons dans le réajustement du flux sortant pendant la première heure qui suit le transfert en eau douce. Dans la figure 5, sont illustrées les évolutions comparées des flux sortants. Ces derniers sont exprimés en % de la valeur du flux en eau de mer choisie comme base. D'après Motais (1967) l'anguille possède une régulation « instantanée » qui porte sur plus de 80 % du flux sortant alors qu'elle est inférieure à 30 % chez *Fundulus*. Cette régulation serait sans inertie, du type « diffusion par échange » où flux entrant et flux sortant se trouvent couplés et dépendent de la concentration externe. Après

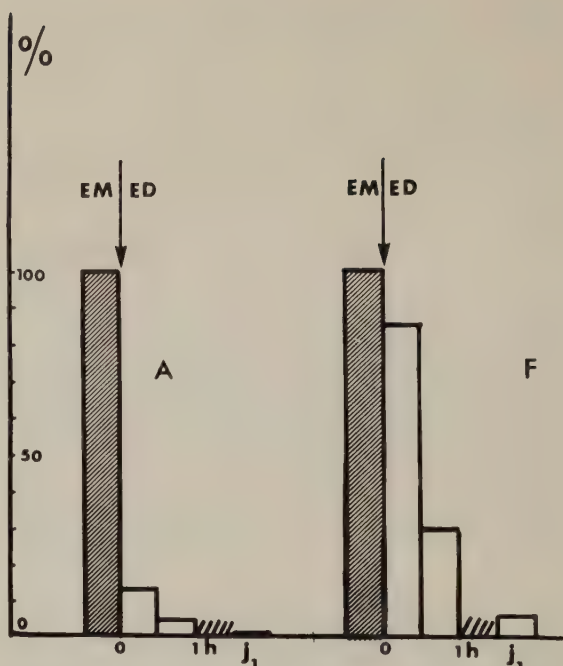


FIG. 5. — Evolution du flux sortant de sodium chez *Anguilla anguilla* (A) et *Fundulus heteroclitus* (F) au cours du transfert d'eau de mer en eau douce. Les flux sont exprimés en % de la période en eau de mer prise comme base.
 0—1 h = première heure de séjour en eau douce.
 J_1 = moyenne des flux pendant les 8 heures suivantes.

une demi-heure en eau douce, on peut observer chez l'un comme chez l'autre un second réajustement du flux sortant : la « régulation différée ». Constatons que la première heure de séjour en eau douce constitue une perte très importante de sel pour *Fundulus*, bien moindre pour l'anguille.

Première et deuxième journée en eau douce. Le Tableau II résume les flux mesurés chez l'anguille et chez *Fundulus* le premier et le second jour après le transfert d'eau de mer en eau douce. Chez l'anguille la réduction du flux sortant est telle que

TABLEAU II. — Balance minérale chez *Fundulus* et anguilles intacts au cours du transfert d'eau de mer en eau douce

		Na_{ext} moy. mEq/l	f_e $\mu Eq/h/100\text{ g}$	f_n $\mu Eq/h/100\text{ g}$	f_s $\mu Eq/h/100\text{ g}$	f_e/Na_{ext}
J_1	<i>Fundulus</i> (15)	1,41	$29,3 \pm 4,80$	$- 118,0 \pm 21,4$	$147 \pm 21,9$	$21,5 \pm 1,91$
	Anguilles (5)	0,590	$2,0 \pm 1,18$	$- 4,7 \pm 1,14$	$6,7 \pm 2,28$	$6,4 \pm 2,86$
J_2	<i>Fundulus</i> (14)	1,68	$34,1 \pm 4,78$	$+ 11,2 \pm 5,60$	$22,9 \pm 3,00$	$22,1 \pm 1,82$
	Anguilles (5)	0,145	$1,0 \pm 0,40$	$- 2,7 \pm 1,42$	$3,7 \pm 1,60$	$6,4 \pm 2,23$

J_1 et J_2 : Résultats obtenus respectivement les 1^{er} jour et 2^e jour après transfert des animaux en eau douce.
 Entre parenthèses : le nombre d'animaux en expérience.

les pertes de sodium, consécutives au changement de milieu, restent faibles, même si le bilan de la balance minérale est légèrement négatif. L'intensité du flux entrant est loin d'atteindre la valeur qui est celle des animaux adaptés à l'eau douce, et cela, même au cours de la deuxième journée. Tout se passe comme si le séjour en eau de mer produisait une surcharge saline du milieu intérieur susceptible de déclencher une inhibition passagère de la capacité d'absorber les ions sodium dans le milieu extérieur. Chez *Fundulus*, le flux sortant n'est pas réduit dans les délais aussi rapides et les pertes de sodium au cours de la première journée en eau douce sont très importantes. La balance minérale est négative malgré une aptitude instantanée à absorber les ions sodium (le flux entrant est, dès le premier jour, égal à celui qui existe chez les animaux adaptés à l'eau douce). La pente de la droite représentant le flux entrant en fonction de la concentration du sodium externe (fig. 6) n'est pas significativement différente de celle que nous avons obtenue (fig. 3) pour les animaux adaptés à l'eau douce. Le second jour après le transfert, la balance minérale est significativement positive, permettant ainsi au poisson de retrouver peu à peu la natrémie qu'il avait en eau de mer.

Nous examinerons les mécanismes possibles pour ces deux types de régulation dans le Chapitre III, réservé à la discussion.

B) Etude comparée de la balance minérale chez les animaux hypophysectomisés. Effet de la prolactine.

1. Animaux adaptés à l'eau de mer.

a) Concentration plasmatique du sodium.

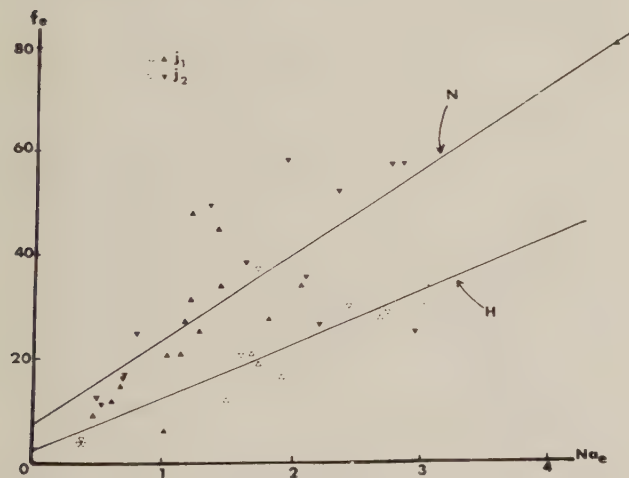


FIG. 6. — Variation du flux entrant de sodium en fonction de la concentration du sodium externe, au cours du transfert d'eau de mer en eau douce, chez *Fundulus heteroclitus*. f_e est exprimé en $\mu\text{Eq/h/100 g}$; Na_e externe est exprimé en mEq/l ;
 ▲ animaux intacts;
 N
 Δ animaux hypophysectomisés.
 H

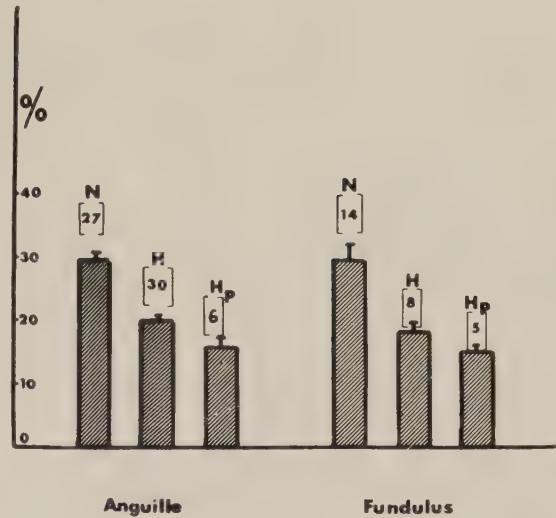


FIG. 7. — Mesure de la fraction renouvelée du sodium par heure (en % de la masse de sodium échangeable), chez l'anguille et chez *Fundulus* adaptés à l'eau de mer. N = animaux intacts; H = animaux hypophysectomisés; Hp = animaux hypophysectomisés traités à la prolactine. Entre crochets, le nombre d'animaux étudiés.

La concentration plasmatique du sodium mesurée un mois environ après l'ablation n'est pas significativement différente de celle mesurée chez les animaux intacts, elle est de : $142,0 \pm 12,8 \text{ mEq/l}$ pour 7 *Fundulus* hypophysectomisés et de $140,4 \pm 4,3 \text{ mEq/l}$ pour 8 anguilles hypophysectomisées.

b) Mesure de l'intensité des échanges.

La figure 2 a montré que les courbes d'apparition du ^{24}Na dans le milieu extérieur sont encore des exponentielles simples. L'hypophysectomie produit une réduction de la fraction renouvelée qui, d'une valeur voisine de 30 %, descend approximativement à 20 %. Cette diminution d'un tiers environ de la fraction horaire renouvelée est significative aussi bien chez *Fundulus* que chez l'anguille.

Flux sortants : le flux sortant qui était de $1\,309 \pm 119 \mu\text{Eq/h/100 g}$ chez les anguilles intacts devient $700 \pm 46 \mu\text{Eq/h/100 g}$ chez 9 anguilles hypophysectomisées. De même, chez *Fundulus*, le flux sortant qui était de $2\,020 \mu\text{Eq/h/100 g}$ environ descend à $990 \mu\text{Eq/h/100 g}$ après hypophysectomie. Ainsi la mesure des flux sortants confirme la diminution des échanges et elle montre également que la diminution de l'intensité des échanges après hypophysectomie est comparable chez les deux espèces de poissons.

c) Thérapeutique restitutive.

Comme le montre la figure 7 les injections de prolactine mammaliennes restent sans action sur le niveau des échanges. Par contre, des expériences

TABLEAU III. — *Balance minérale chez Fundulus et Anguilles hypophysectomisés au cours du transfert d'eau de mer en eau douce*

		Na_{ext} moy. mEq/l	f_e $\mu Eq/h/100\text{ g}$	f_n $\mu Eq/h/100\text{ g}$	f_s $\mu Eq/h/100\text{ g}$	f_e/Na_{ext}
J_1	Fundulus (7)	2,88	$23,7 \pm 5,75$	$-153,7 \pm 43,9$	$177,4 \pm 43,4$	$10,1 \pm 1,90$
	Anguilles (5)	0,590	$1,3 \pm 1,08$	$-5,7 \pm 1,78$	$7,0 \pm 1,78$	$2,9 \pm 0,70$
J_2	Fundulus (10)	1,86	$22,1 \pm 4,09$	$-27,8 \pm 7,47$	$49,9 \pm 8,90$	$12,5 \pm 1,12$
	Anguilles (5)	0,125	$0,7 \pm 0,30$	$-1,8 \pm 0,58$	$2,5 \pm 0,81$	$5,6 \pm 2,40$

J_1 et J_2 : Résultats obtenus respectivement les 1^{er} jour et 2^e jour après transfert des animaux en eau douce.
Entre parenthèses : le nombre d'animaux en expérience.

complémentaires ont montré que la suppression d'A.C.T.H. est responsable de la réduction observée. Les injections d'A.C.T.H. permettent de retrouver un taux d'échange normal chez l'anguille ($30,9 \pm 2,42\%$ pour 4 anguilles ayant reçu 2 unités d'A.C.T.H.) et provoquent seulement une augmentation significative du taux de renouvellement chez *Fundulus* (variation de $12,5 \pm 4,12\%$ à $20,2 \pm 1,03\%$ pour 12 poissons ayant reçu 4 unités d'A.C.T.H.). Nous reviendrons plus longuement sur ces résultats en ce qui concerne l'anguille.

2. Animaux transférés d'eau de mer en eau douce.

a) Effets de l'hypophysectomie. Comparaison entre les réajustements de la balance minérale chez *Fundulus* et chez l'anguille.

Etant donné la durée de survie relativement courte (5 à 6 jours) des *Fundulus* hypophysectomisés transférés en eau douce, nous n'avons mené l'étude comparative entre les deux types d'animaux que pendant deux jours après le transfert. Cependant, l'anguille étant capable de survivre à l'opération et de s'adapter à l'eau douce, nous lui consacrerons un paragraphe supplémentaire distinct.

Première heure après transfert. Le premier réajustement, qui apparaît pendant la première heure de séjour en eau douce, n'est pas modifié après hypophysectomie.

Premier et deuxième jour en eau douce. Comparaison des flux nets chez *Fundulus* et Anguilla

Le Tableau III réunit les moyennes des différentes mesures des flux chez les animaux hypophysectomisés, le premier et second jour après le transfert en eau douce. La figure 8 permet de comparer les flux nets. On constate que les deux

poissons intacts ou hypophysectomisés sont en balance négative, déséquilibre faible pour l'anguille, plus important pour *Fundulus* chez qui la persistance de cet état est la cause d'une déminéralisation excessive qui entraîne la mort. La comparaison du Tableau III avec le Tableau II, relatif à des animaux intacts, montre que l'hypophysectomie entraîne des perturbations importantes dans le réajustement des flux unidirectionnels chez *Fundulus* et moindres chez *Anguilla*.

Mesures des flux unidirectionnels chez *Fundulus*

Le premier jour du transfert le flux sortant n'est pas significativement différent de celui des animaux intacts, mais le flux entrant (fig. 6) se trouve di-

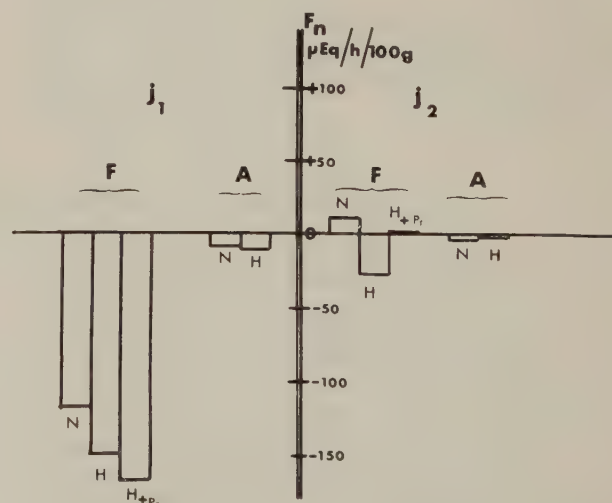


FIG. 8. — Comparaison des flux nets exprimés en $\mu Eq/h/100\text{ g}$ chez l'anguille (A) et chez *Fundulus* (F) le premier jour (J_1) et le second jour (J_2) après transfert d'eau de mer en eau douce.
N = animaux normaux ; H = animaux hypophysectomisés ; H + Pr = animaux hypophysectomisés traités à la prolactine.

minué de moitié. Le second jour, la différence entre les animaux intacts et opérés s'accroît encore. Non seulement le flux entrant n'atteint toujours pas le niveau observé chez les poissons normaux (il demeure deux fois moins élevé), mais, de plus, le flux sortant est double de celui des animaux intacts. La double défaillance d'une part à contrôler la fuite du sodium et d'autre part à obtenir d'emblée un flux entrant de sodium comparable à celui des animaux adaptés à l'eau douce, caractérise donc les effets de l'hypophysectomie chez *Fundulus* quand il est transféré d'eau de mer en eau douce. Elle explique ainsi la déminéralisation importante observée.

Mesures des flux unidirectionnels chez l'anguille

Chez l'anguille, contrairement à ce que nous venons de voir chez *Fundulus*, l'hypophysectomie n'a pas de conséquence sur le réajustement des flux aussi bien pendant la première phase que pendant les deux premiers jours qui suivent le transfert en eau douce. Ni le flux entrant ni le flux sortant ne sont significativement modifiés à la suite de l'ablation de l'hypophyse.

b) Hypophysectomie avec traitement à la prolactine chez *Fundulus*.

Comme nous n'avons pas constaté de différences entre animaux intacts et hypophysectomisés au cours des deux premiers jours de séjour en eau douce chez l'anguille, nous nous limiterons dans ce paragraphe à l'étude de *Fundulus*. On a vu que l'effet d'un traitement prolactinique a des conséquences spectaculaires sur la survie des animaux (Burden, 1956 ; Pickford et Phillips, 1965). Nous avons étudié cet effet dès le changement de milieu pour comprendre comment le traitement prolactinique est susceptible de modifier les échanges de sodium. Les flux mesurés chez des animaux hypophysectomisés ayant reçu, soit une solution de Ringer, soit une solution de prolactine sont représentés sur la figure 9.

Le premier jour après transfert en eau douce, les injections de prolactine ne produisent aucune modification dans le réajustement du flux sortant. De toute façon, un traitement réalisé avec des doses physiologiques ne pouvait pas prétendre mettre en évidence un changement dans l'intensité du flux sortant puisqu'aucune différence n'existe, quant à ce flux, entre les animaux hypophysectomisés et intacts, pendant cette première journée en eau douce. La prolactine est également incapable d'augmenter le flux entrant qui demeure inférieur au flux mesuré chez les animaux intacts. Donc, le premier jour après le transfert en eau douce, le traitement hormonal n'a aucune action apparente sur les échanges de sodium.

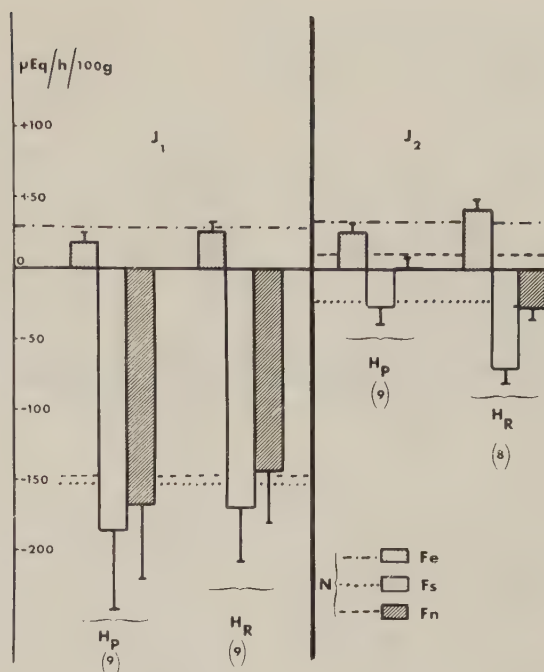


FIG. 9. — Comparaison des composantes de la balance minérale du sodium chez *Fundulus heteroclitus*. Mesures effectuées le jour même (J₁) et le lendemain (J₂) du transfert d'eau de mer en eau douce.

H_p = *Fundulus* hypophysectomisés + prolactine.

H_r = *Fundulus* hypophysectomisés + solvant.

Entre parenthèses, le nombre d'animaux.

Le deuxième jour après le changement de milieu, une nette différence apparaît entre les animaux recevant de la prolactine et ceux qui n'en reçoivent pas. En effet, les premiers ont une balance minérale équilibrée alors que les seconds ont encore une balance significativement négative. Ce résultat, comme l'exprime la figure 9, tient essentiellement à une diminution importante du flux sortant qui devient comparable à celui qui existe chez les animaux normaux. Par contre les flux entrants rapportés à la concentration du sodium externe (qui seuls permettent une comparaison, étant donné la corrélation qui existe entre l'intensité du flux entrant et la concentration du sodium dans le milieu externe) sont de :

$$10,8 \pm 2,68 \mu\text{Eq/h/100 g/mEq Na}_{\text{ext}}$$

chez les animaux opérés recevant de la prolactine alors qu'ils sont de :

$$22,1 \pm 1,82 \mu\text{Eq/h/100 g/mEq Na}_{\text{ext}}$$

chez les animaux intacts.

Donc la prolactine n'a pas modifié la capacité d'absorption branchiale des ions sodium qui reste déficiente.

En conclusion, la prolactine est une hormone indispensable à l'adaptation en eau douce des *Fundulus heteroclitus*. Cependant, elle n'est probablement pas la seule à intervenir puisque la balance minérale des animaux hypophysectomisés et recevant un traitement hormonal n'est pas comparable

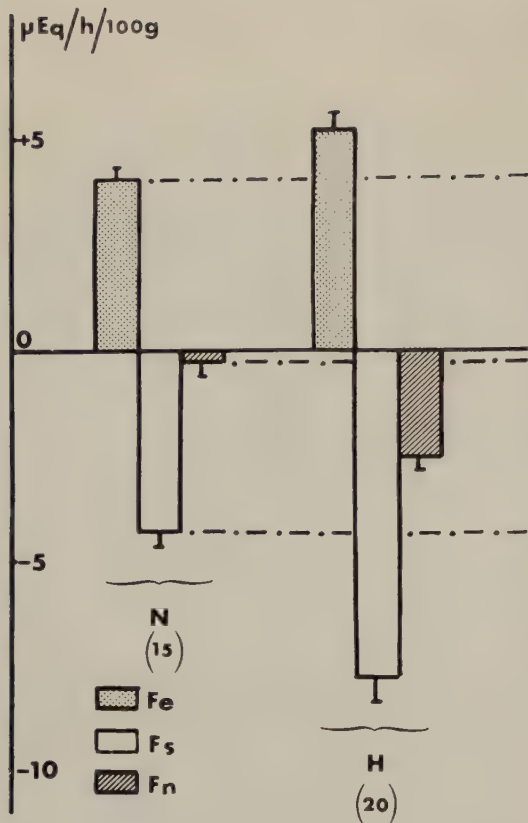


FIG. 10. — Comparaison des composantes de la balance minérale du sodium chez les anguilles adaptées à l'eau douce. Les flux sont exprimés en $\mu\text{Eq/h/100 g}$. Entre parenthèses le nombre d'animaux.
N = anguilles normales.
H = anguilles hypophysectomisées.

à celle des animaux intacts. Elle agit en limitant les fuites de sodium. Nous discuterons dans le Chapitre III de son lieu d'action ainsi que du mode d'action possible sur les mécanismes d'échanges ioniques.

c) *L'effet de l'hypophysectomie et de la prolactine en rapport avec le transfert d'eau de mer en eau douce et l'adaptation à l'eau douce chez l'anguille.*

Au cours du transfert d'eau de mer en eau douce le réajustement du flux sortant pendant la première heure chez les animaux hypophysectomisés est exactement comparable à celui des animaux intacts. L'injection de prolactine ne produit aucun changement. De même, la comparaison des Tableaux II et III montre que le réajustement de la balance minérale pendant les deux premières journées en eau douce n'est pas modifié par l'hypophysectomie.

Par contre, l'examen de la figure 10, où sont portés les différents flux mesurés chez des animaux adaptés depuis longtemps à l'eau douce, montre que les anguilles intactes ont une balance minérale bien équilibrée alors que les anguilles hypophysec-

tomisées depuis 3 à 5 semaines sont en balance significativement négative. Ce résultat explique la diminution de la concentration du sodium plasmatique observée par Oliveureau et Chartier-Baraduc (1966) chez les animaux hypophysectomisés longtemps après l'opération. Ces mêmes auteurs ont également observé qu'un traitement prolactinique continu, débuté aussitôt après l'ablation de l'hypophyse évite la chute de la natrémie. C'est donc dans des conditions différentes, en particulier avec une nouvelle échelle de temps de l'ordre de la semaine (par opposition à l'échelle de temps choisie pour *Fundulus* qui était de l'ordre du jour) que nous avons cherché à préciser comment la prolactine était capable d'éviter la chute de la natrémie.

Thérapeutique restitutive. La figure 11 illustre les expériences de longue durée. Les flux sont étudiés chez les animaux hypophysectomisés, adaptés à l'eau douce et recevant soit une solution de Ringer soit une solution de prolactine. La première semaine, aucune différence significative n'apparaît ; les animaux traités présentent un $F_e/\text{Na}_{\text{ext}}$ un peu plus élevé, mais le flux sortant étant également très légèrement augmenté, le bilan des entrées et des pertes est pratiquement identique. La seconde semaine, des différences entre les deux groupes d'animaux apparaissent. Le flux entrant chez les animaux recevant de la prolactine est significativement plus grand que celui des opérés-témoins ; mais surtout, le flux sortant reste normal, il ne subit pas d'augmentation comme c'est le cas pour les anguilles non traitées. Il en résulte que la prolactine constitue une thérapeutique efficace puis-

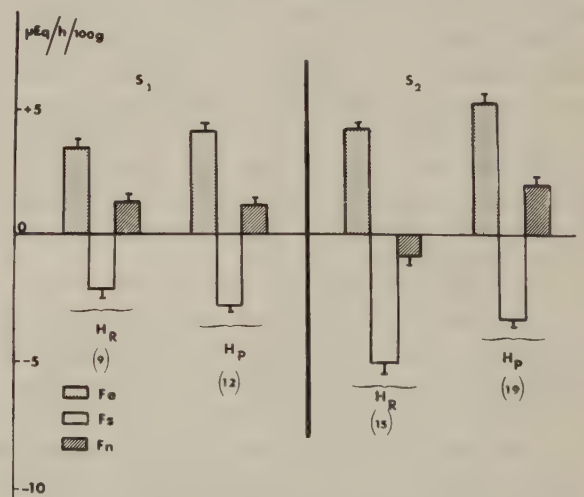


FIG. 11. — Comparaison des composantes de la balance minérale chez les anguilles hypophysectomisées. Les flux sont exprimés en $\mu\text{Eq/h/100 g}$.

S₁ = première semaine après ablation.

S₂ = deuxième semaine après ablation.

H_R = anguilles hypophysectomisées recevant une solution de Ringer.

H_P = anguilles hypophysectomisées traitées à la prolactine.

Entre parenthèses le nombre de mesures

qu'elle permet aux animaux traités d'avoir une balance minérale positive. Elle agit ici encore, essentiellement en permettant la réduction du flux sortant, mais elle est capable d'augmenter le flux entrant, ce qui n'était pas le cas lors du traitement des *Fundulus* par la prolactine.

Nous discuterons dans le Chapitre III des effecteurs mis en cause par l'hypophysectomie, des conditions de sécrétion d'un facteur « prolactine-like » ainsi que des mécanismes d'action de cette hormone.

II. ROLE DE L'AXE HYPOPHYSE-INTERRÉNAL DANS LA RÉGULATION DE LA BALANCE MINÉRALE CHEZ L'ANGUILLE

En eau de mer comme en eau douce, nous venons de voir que la prolactine mammalienne (considérée comme équivalente au facteur « prolactine-like » sécrété par les poissons) ne saurait être seule à intervenir dans la régulation de la balance minérale. Rappelons que l'hypophysectomie s'accompagne d'une réduction de la fraction horaire de sodium renouvelée (celle-ci passant de 30 % à 20 % environ). Le traitement prolactinique s'avère incapable de produire une augmentation de cette fraction renouvelée (fig. 7). Il y a donc, au moins, un autre facteur sécrété par l'hypophyse qui participe à la régulation de la balance minérale.

L'existence d'une interaction entre l'hypophyse et l'interrénal et le rôle de ces glandes dans l'équilibre minéral ont été abondamment étudiés. Plusieurs revues générales exposent des résultats sur ce problème chez les vertébrés inférieurs (Hoar, 1966 ; Van Oordt, 1968 et Maetz, 1968).

Nous avons actuellement des preuves, obtenues par différentes techniques, qu'un tel axe hypophyso-interrénalien existe chez les poissons et qu'il a un rôle de tout premier plan dans l'osmorégulation. Il n'est pas dans notre optique de faire une liste exhaustive des travaux relatifs à ce problème ; nous avons choisi quelques-unes des preuves qui ont suggéré l'existence et l'importance de l'axe hypophyse-interrénal dans la régulation minérale.

A) Preuves histologiques et biochimiques de l'existence d'un axe hypophyso-interrénalien chez les poissons.

1. Preuves histologiques.

Olivereau et Fromentin (1954), Olivereau (1965) ont observé une diminution de l'activité interrénalienne après ablation de l'hypophyse, activité restaurée grâce à des injections d'A.C.T.H. Réciproquement,

l'interrénalectomie agit sur les cellules corticotropes hypophysaires en provoquant leur hyperactivité (Hanke *et al.*, 1967 ; Olivereau et Olivereau, 1968).

Par ailleurs il a été montré que des injections de cortisol exogène entraînent une régression des cellules corticotropes et des cellules de l'interrénal (Olivereau, 1966 ; Hanke *et al.*, 1967). Ces mêmes auteurs ont confirmé l'existence d'une telle boucle régulatrice en observant que l'interrénalectomie partielle s'accompagne d'une part, d'une hypertrophie du fragment subsistant et d'autre part, d'un état d'hyperactivité des cellules corticotropes.

2. Preuves biochimiques.

La mesure des concentrations des corticoïdes circulants est un des meilleurs tests de l'activité de la glande quoique les concentrations résultent en fait d'un équilibre entre synthèse et destruction des hormones. Leloup-Hatey (1964) a montré que l'hypophysectomie produit une diminution de la concentration en 17 hydroxystéroïdes du plasma. Plusieurs auteurs, Butler (1965), Sandor *et al.* (1966), Leloup-Hatey (1966) ont précisé que l'hormone circulante est essentiellement du cortisol. Celui-ci est en effet le principal corticoïde sécrété par l'interrénal des poissons.

Bradshaw et Fontaine-Bertrand (1968) ont montré que l'ablation de l'hypophyse chez *Anguilla anguilla* s'accompagne d'une diminution de la concentration du cortisol circulant. Le même résultat a été trouvé chez *Anguilla rostrata* (Butler *et al.*, 1969). Ces derniers auteurs ont montré en plus que l'injection d'A.C.T.H. à des animaux hypophysectomisés produit une augmentation du taux de cortisol circulant. Signalons aussi qu'*in vitro*, l'addition d'A.C.T.H. à des interrénals d'anguilles européennes en survie produit une augmentation de la sécrétion de cortisol à condition que l'organe soit prélevé chez l'animal hypophysectomisé (Leloup-Hatey, 1967). L'interrénalectomie provoque également une diminution significative de la concentration plasmatique du cortisol (Chester Jones, communication personnelle).

Il est donc clair qu'une boucle régulatrice entre l'hypophyse et l'interrénal existe et nous allons maintenant grouper les observations permettant de penser que cette boucle joue essentiellement un rôle osmorégulateur.

B) Preuves histologiques et biochimiques de l'intervention de l'axe hypophyse-interrénal dans l'osmorégulation.

La comparaison de l'état fonctionnel de ces glandes suivant des critères histologiques, quand les anguilles sont adaptées à des milieux dont la

salinité est différente de celle de l'eau douce, montre que les niveaux d'activités changent en fonction du milieu. L'activité corticotrope de l'hypophyse se trouve stimulée, chez les animaux adaptés à l'eau de mer et chez les animaux adaptés à l'eau déminéralisée (Hanke *et al.*, 1967).

L'adaptation des anguilles à l'eau de mer produit également une stimulation de l'activité de l'inter-rénal (Olivereau, 1966 ; Hanke *et al.*, 1967). Leloup-Hatey (1964) a montré que le transfert brutal à partir de l'eau douce vers un milieu externe de salinité plus élevée produit une augmentation de la sécrétion des 17 hydroxystéroïdes. Par ailleurs, l'adaptation à l'eau déminéralisée semble modifier l'activité interrénalienne qui selon Olivereau (1966) se trouverait stimulée tandis que pour Hanke *et al.* (1967) elle se trouverait ralentie. Des informations concernant le niveau de cortisol circulant pourraient aider à choisir entre ces interprétations contradictoires.

Les preuves histologiques et biochimiques les plus frappantes de l'importance du rôle de l'axe hypophyse-interrénal dans l'osmorégulation de l'anguille ayant été exposées, nous allons présenter les arguments d'ordre physiologique qui découlent de nos travaux.

C) Preuves physiologiques de l'intervention de l'axe hypophyse interrénal dans l'osmorégulation.

Nous avons étudié essentiellement les effets de l'interrénalectomie par voie chirurgicale. Les résultats obtenus à la suite d'un traitement à la métopirone chez les anguilles adaptées à l'eau de mer seront cependant signalés. Pour les détails techniques et expérimentaux, on se rapportera aux publications suivantes : Mayer et Maetz (1967), Mayer *et al.* (1967), Maetz *et al.* (1967).

Pour une revue d'ensemble du rôle de cet axe hypophyse-interrénal chez les téléostéens, on se rapportera aux articles de synthèse : Maetz (1968-1969) ; Maetz, Motais, Mayer (1969).

1. Axe hypophyse-interrénal chez les anguilles adaptées à l'eau douce

a) Effets de l'hypophysectomie et de l'interrénalectomie sur la balance minérale.

Nous avons déjà rapporté les effets de l'ablation de l'hypophyse chez l'anguille adaptée à l'eau douce. Rappelons que l'hypophysectomie chez cette dernière ne provoque pas la mort ; qu'elle s'accompagne d'une diminution de la concentration plasmatique du sodium et du chlore, lente, mais qui devient significative après quelques semaines. Cette diminution est due, comme nous l'avons vu pour

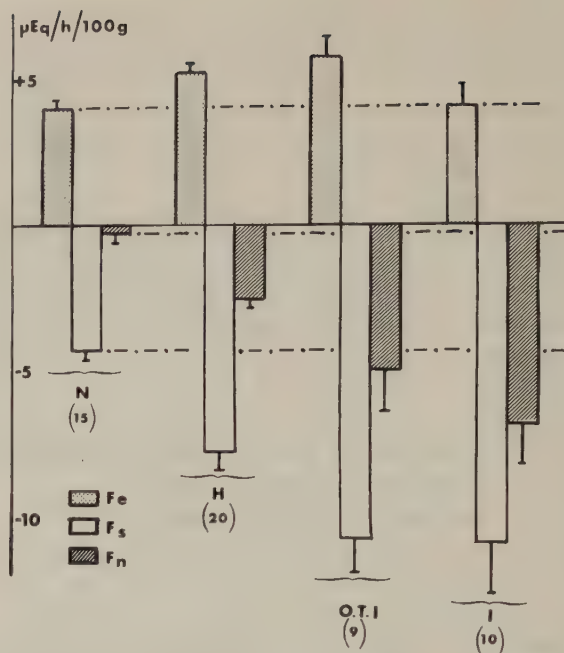


FIG. 12. — Comparaison des composantes de la balance minérale chez les anguilles adaptées à l'eau douce. Flux exprimés en $\mu\text{Eq/h/100 g}$.
N = animaux normaux.
H = animaux hypophysectomisés.
Entre parenthèses, nombre de mesures.
O.T.I. = opérés-témoins d'interrénalectomie.
I = interrénélectomisés.
Entre parenthèses, nombre d'animaux.

le sodium, à l'existence d'un flux sortant exagéré, origine d'un flux net négatif.

Mesure du flux sortant :

Ces résultats ont été rapportés à nouveau pour être comparés avec ceux relatifs à l'interrénalectomie (fig. 12). Etant donné que l'ablation nécessite une intervention chirurgicale importante, les flux ont été également mesurés chez des animaux opérés-témoins. L'examen de cette figure montre que seuls les animaux intacts ont une balance sodique équilibrée. Les animaux hypophysectomisés, les opérés-témoins d'interrénalectomie, et les animaux interrénélectomisés ont un f_s exagérément élevé et une balance minérale négative. La différence avec les animaux normaux est toujours très significative ($P < 0,01$ pour les opérés-témoins, $P < 0,001$ pour les hypophysectomisés et les interrénélectomisés). L'augmentation du flux sortant, observée entre autre chez les animaux opérés-témoins, s'explique sans doute par les conséquences de l'intervention chirurgicale : lésions de vaisseaux sanguins et présence d'une ouverture cutanée non cicatrisée. En effet, selon Chan (communication personnelle) l'interrénalectomie ne produit pas de modification du flux sortant lorsque l'étude porte sur des animaux opérés depuis plusieurs semaines et dont la blessure est cicatrisée. Ainsi, dans nos conditions opératoires, une éventuelle augmentation du flux sortant chez les animaux interrénélectomisés ne peut être décelée de façon probante.

TABLEAU IV. — $f_e/[Na]_{ext}$, chez les anguilles adaptées à l'eau douce, exprimé en $\mu Eq/h/100\text{ g}$ et par mEq de sodium externe

Intactes (15)	$33,8 \pm 2,80$
Hypophysectomisées (20)	$41,9 \pm 2,93^*$
Opérés-témoins d'interrénalectomie (9)	$30,4 \pm 5,64$
Interrénalectomisés (10)	$19,4 \pm 2,42^{**}$
* $P < 0,05$ ** $P < 0,01$	

Mesure du flux entrant :

En ce qui concerne le flux entrant, les colonnes présentées sur la figure 12 ne tiennent pas compte de la quantité, variable, de sodium présente dans le milieu extérieur. Le Tableau IV groupe les valeurs moyennes obtenues pour le rapport f_e/Na_{ext} , qui seul rend compte de la capacité d'absorption. Les animaux hypophysectomisés ont un f_e/Na_{ext} légèrement supérieur à celui des animaux intacts. L'opération-témoin de l'interrénalectomie ne produit aucune variation de ce rapport tandis que l'interrénalectomie provoque une diminution très significative.

Nous avons montré que la chute de la natrémie, observée chez les animaux hypophysectomisés, résulte essentiellement d'une augmentation du flux sortant. Dans le cas de l'ablation de l'interrénal, il est difficile de trancher en ce qui concerne le flux sortant du fait des conditions opératoires mais il est certain que la diminution du flux entrant contribue pour une grande part à cette chute de la natrémie. Henderson et Chester Jones (1967) ont également observé, grâce à une autre technique (mesures sans isotopes des flux nets de sodium branchiaux, réalisées grâce à un tube en U spécial pour anguille) que l'interrénalectomie produisait une diminution de la capacité d'absorption des ions sodium.

b) Thérapeutique restitutive.

Parmi les hormones hypophysaires, nous avons montré qu'en eau douce la prolactine était capable, si elle est injectée dès l'ablation, d'éviter l'augmentation du flux sortant qui suit l'hypophysectomie. Nous n'avons pas essayé, après ablation de l'une ou l'autre glande, les thérapeutiques restitutives appropriées. Ce problème se trouve être l'objet de recherches nombreuses, notamment dans le laboratoire du Professeur Chester Jones.

De faibles doses d'aldostérone injectées permettraient un retour du flux net d'absorption (diminué après interrénalectomie) vers une valeur normale (Henderson et Chester Jones, utilisation du tube à anguille, 1967).

Chester Jones *et al.* (1967) ont montré que de faibles doses de cortisol (moins de 2 mg/kg) sont également capables de réparer la déficience du flux net d'absorption provoquée par l'interrénalectomie.

c) Effet d'une forte dose de cortisol chez les animaux intacts. Effet de choc.

Henderson et Chester Jones (1967) ont montré que l'injection de fortes doses de cortisol (15 à 30 mg/kg) provoque une perte de sodium importante à travers la branchie. Les flux nets extrarénaux sont mesurés, comme nous l'avons signalé, grâce au tube à anguille chez des animaux sous anesthésie, c'est-à-dire considérés comme non « choqués ». Quand les animaux intacts sont choqués (mauvaise anesthésie et agitation importante des poissons) il apparaît, selon ces auteurs, une perte sodique branchiale comparable à celle provoquée par des injections de cortisol. Par contre, les animaux interrénalectomisés et choqués ont un flux net de perte branchiale cinq fois moins grand que celui des animaux intacts et choqués. Il est donc probable que le choc corresponde à une libération d'une forte dose de cortisol qui agit comme un facteur d'excrétion de sodium.

Nous discuterons dans le chapitre suivant de la dépendance plus ou moins étroite de l'hypophyse et de l'interrénal ainsi que des modalités de sécrétion et du mode d'action des hormones.

2. Axe hypophyse-interrénal chez les anguilles adaptées à l'eau de mer

a) Axe hypophyse-interrénal chez les animaux intacts.

Nous avons étudié, chez les animaux intacts, l'effet des hormones de l'axe hypophyse-interrénal sur la fraction renouvelée par heure du sodium échangeable. Pour cette étude, les animaux ont été « préparés » c'est-à-dire qu'ils ont été mis en aquarium et injectés quotidiennement pendant plusieurs jours avant que les mesures ne soient effectuées, afin d'éliminer tout effet de choc. Nous avons montré en effet (Chap. I) que ce dernier produisait une augmentation spontanée du taux de renouvellement du sodium.

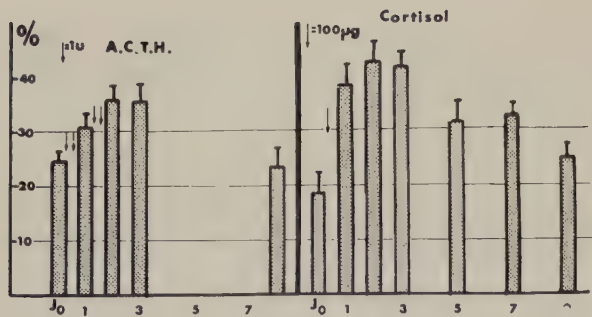


FIG. 13. — Anguilles adaptées à l'eau de mer. Effet, en fonction du temps exprimé en jours, d'injections d'ACTH, de cortisol et d'aldostérone sur la mesure de la fraction renouvelée de sodium (en % de la masse de sodium échangeable).

Entre parenthèses, le nombre d'animaux.

P = correspond à une période de préparation de 3 jours, nécessaire pour éviter un effet de « choc » lors des injections.

La figure 13 illustre les effets d'injection d'A.C.T.H., de cortisol et d'aldostérone. Ces trois hormones agissent dans le même sens et sont capables d'accroître les échanges de sodium. L'A.C.T.H. agit très probablement en stimulant la stéroïdogénèse et le cortisol sécrété agirait à son tour en stimulant les échanges de sodium. Remarquons qu'une faible dose de cortisol déclenche une action relativement brève (fig. 14) alors qu'une forte dose présente un effet qui peut durer jusqu'à 8 jours. L'aldostérone, bien qu'elle ne soit pas l'hormone naturelle, agit de façon comparable pour permettre une augmentation du taux des échanges. La confrontation de l'effet de « choc » (Tableau I) avec les effets des différentes injections (fig. 13)

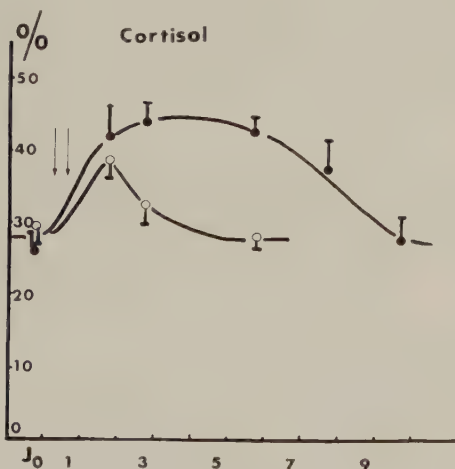


FIG. 14. — Anguilles intactes adaptées à l'eau de mer. Effet, en fonction du temps exprimé en jours, d'injections de cortisol sur la fraction de sodium renouvelée à l'heure (en % de la masse de sodium échangeable).

● forte dose, 20 mg/100 g (n = 8).

○ faible dose, 200 µg/100 g (n = 8).

* L'ablation partielle réalisée par Chan et al (1967) ne provoque pas la mort car des hypertrophies compensatrices apparaissent. Ces auteurs parlent d'ailleurs d'animaux en « insuffisance interrénale »,

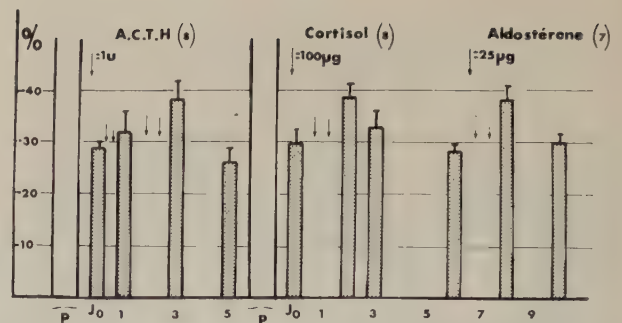


FIG. 15. — Anguilles hypophysectomisées adaptées à l'eau de mer. Effet, en fonction du temps exprimé en jours, d'injections d'ACTH et de cortisol sur la fraction de sodium renouvelée par heure (en % de la masse de sodium échangeable).

Traitement ACTH n = 4 animaux.

Traitement Cortisol n = 4 animaux. L'augmentation est observée 4 heures après l'injection et persiste jusqu'au 7^e jour.

permet de penser que le choc correspond à une sécrétion endogène supplémentaire d'A.C.T.H. ou de cortisol, comparable dans ses effets aux hormones exogènes injectées.

b) Axe hypophyse-interrénal chez les animaux hypophysectomisés.

L'hypophysectomie entraîne une diminution des échanges de sodium. Nous avons montré (Chap. I) que la prolactine ne permet pas de rétablir le taux de renouvellement à son niveau normal. Nous avons étudié en fonction du temps, l'effet d'injections d'A.C.T.H. et de cortisol (fig. 15). Non seulement le niveau des échanges se trouve rétabli mais il est même dépassé. Dans le cas du cortisol, l'effet peut être observé dans les quelques 5 heures qui suivent l'injection d'une faible dose (100 µg/100 g).

Il est donc probable qu'une partie des échanges est sous la dépendance de l'hypophyse. Cette dernière sécrète de l'A.C.T.H. qui stimule le fonctionnement de l'interrénal ; le cortisol libéré accélère les échanges branchiaux.

c) Axe hypophyse-interrénal chez les animaux interrénalectomisés.

α) Effets de l'ablation de l'interrénal.

Survie. — Il est apparu très vite que l'interrénalectomie, bien supportée par les animaux adaptés à l'eau douce, est une opération qui provoque la mort à courte échéance (48 heures) si les animaux sont conservés en eau de mer*. Ainsi, comme nous l'avons observé pour *Fundulus*, l'euryhalinité

dépend essentiellement d'un équilibre endocrinien et du milieu de conservation. Si l'anguille est encore capable de s'adapter à son milieu après hypophysectomie elle perd cette aptitude après interrénalectomie. L'eau de mer diluée au tiers (proche de l'isotonie) permet, comme l'eau douce, une survie prolongée. Nous verrons ultérieurement que nous avons mis cette observation à profit pour maintenir les animaux en vie.

Concentrations plasmatiques. — Les concentrations plasmatiques sont mesurées chez les anguilles interrénalectomisées et opérées-témoins, conservées d'abord en eau de mer diluée, puis deux jours en eau de mer non diluée. Les résultats obtenus avec les animaux ci-dessus sont comparés aux concentrations mesurées chez les anguilles intactes, conservées en eau de mer non diluée.

Anguilles intactes	$151,9 \pm 8,1$ mEq/l (n = 4)
Opérés-témoins	
d'interrénalectomie	$147,1 \pm 0,8$ mEq/l (n = 4)
Interrénalectomisées	$181,5 \pm 4,0$ mEq/l (n = 4)

Le séjour en eau de mer diluée au 1/3 n'a pas apporté une modification significative de la concentration plasmatique du sodium. L'interrénalectomie produit une élévation anormale de la concentration plasmatique des ions sodium. Ces résultats confirment ceux obtenus par Chan *et al.* (1967) chez les anguilles en état d'insuffisance interrénalienne. Tout se passe comme si le poisson était incapable de maintenir un flux net d'excrétion suffisant.

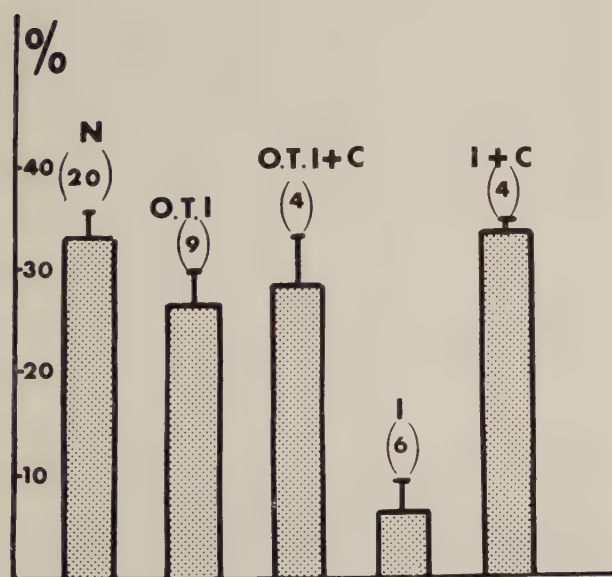


FIG. 16. — Mesure de la fraction renouvelée de sodium par heure (en % de la masse de sodium échangeable chez les anguilles adaptées à l'eau de mer.

N = animaux normaux ; O.T.I. = opérés-témoins d'interrénalectomie ; O.T.I. + C = opérés-témoins d'interrénalectomie traités au cortisol ; I = interrénalectomisés ; I + C = interrénalectomisés traités au cortisol.

Entre parenthèses le nombre de mesures.

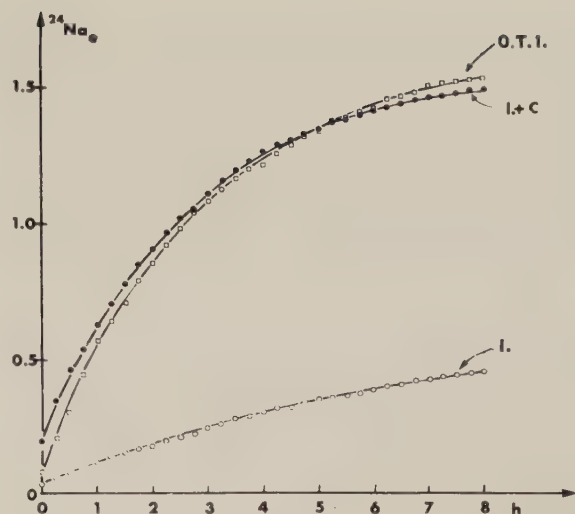


FIG. 17. — Effet du cortisol sur le taux de renouvellement du sodium chez l'anguille interrénalectomisée adaptée à l'eau de mer. Quantité de sodium 24 apparue dans le milieu externe (en ipm $\times 10^4$) en fonction du temps en heures.

□ = I.T.I. = Opéré-témoin d'interrénalectomie.

● = I + C = interrénalectomisé recevant du cortisol.

○ = I = interrénalectomisé. Les poissons de même poids ont reçu la même dose de 24 Na et sont placés dans le même volume d'eau de mer.

Mesures des échanges de sodium. — Après ablation de l'interrénal, les anguilles sont conservées en eau de mer (1/3) et sont placées en eau de mer normale (1/1), la veille des mesures. Les figures 16 et 17 illustrent les résultats obtenus. Les animaux interrénalectomisés présentent une fraction renouvelée par heure, exprimée en % de la masse de sodium échangeable, très anormalement abaissée. Elle est environ de 6 %. L'observation de la figure 17 permet d'éliminer l'objection « d'un effet de choc opératoire » puisque la fraction renouvelée, mesurée chez les opérés-témoins, est tout à fait comparable à celle mesurée chez les animaux intacts (environ 27 %). Il semble que le taux de renouvellement et l'intensité du flux net d'excrétion soient liés, puisque à un taux de renouvellement bas et un flux sortant bas (environ 500 μ E/h/100 g) est associée une concentration plasmatique anormalement élevée.

β) Thérapeutique restitutive.

La dose de cortisol est de 50 μ g pour 100 g de poisson. Elle a été injectée en 3 fois à 12 heures d'intervalle ; la dernière injection est faite juste avant la mesure des échanges de sodium.

Survie. — Les animaux interrénalectomisés qui reçoivent une faible dose de cortisol dès le transfert « d'eau de mer 1/3 » en eau de mer ont une survie prolongée supérieure à 48 heures.

Concentrations plasmatiques. — L'injection de cortisol permet de maintenir normale la concentration plasmatique du sodium (voir ci-dessous).

Mesures des échanges de sodium. — Le cortisol, injecté dès le transfert « d'eau de mer 1/3 » en eau de mer, c'est-à-dire la veille des mesures, est capable, à lui seul, de rétablir le taux des échanges à un niveau normal (fig. 16 et 17). La fraction de sodium renouvelée par heure est alors égale à 33 %. On peut donc admettre que le cortisol est indispensable pour que les échanges ioniques, entre le poisson et l'eau de mer, soient équilibrés.

La mesure directe des flux sortants confirme l'efficacité de la thérapeutique choisie puisque le flux sortant était de 500 $\mu\text{Eq/h/100 g}$ devient égal à environ 1 500 $\mu\text{Eq/h/100 g}$ après traitement au cortisol, c'est-à-dire comparable à celui qui a été mesuré chez les animaux intacts et les animaux opérés-témoins.

Le cortisol (hormone naturelle chez l'anguille) est donc le facteur indispensable à l'équilibre du poisson en eau de mer. Il lui permet de maintenir un flux sortant et un flux net d'excrétion suffisants et de conserver ainsi une concentration plasmatique relativement constante. Remarquons que les doses utilisées sont très faibles et peuvent être considérées comme physiologiques.

d) *Interrénalectomie pharmacologique.*

L'injection de métopirone à des anguilles adaptées à l'eau de mer retentit sur les échanges de sodium qui sont diminués à la suite de ce traitement. Cette diminution (fig. 18) n'est pas aussi considérable que celle observée après ablation chirurgicale de l'interrénal. Le fonctionnement de l'interrénal ne serait donc pas totalement arrêté par la métopirone et une sécrétion continuerait, suffisante pour maintenir un taux d'échanges relativement élevé.

3. *Axe hypophyse-interrénal*
chez les anguilles transférées d'un milieu à l'autre

a) *Transfert d'eau douce en eau de mer.*

ANIMAUX INTACTS.

Les mécanismes d'échange présents en eau de mer et en eau douce sont différents (Motais et Maetz, 1964 ; Motais *et al.*, 1966 ; Motais, 1967) puisqu'il s'agit d'absorber ou d'excréter des ions-sodium selon la salinité du milieu extérieur. Motais (1967) a montré que l'adaptation à l'eau de mer consiste en un réajustement lent des flux entrants et sortants branchiaux, d'autant plus lent que le séjour en eau douce a été long. Dans un

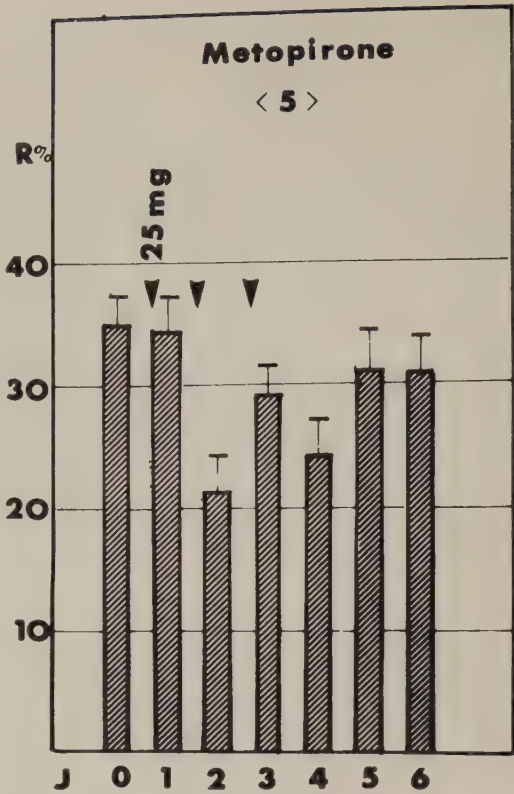


FIG. 18. — Anguilles adaptées à l'eau de mer. Effet, en fonction du temps exprimé en jours, de la métopirone sur la fraction renouvelée du sodium par heure (en % de la masse de sodium échangeable). Moyenne et erreur standard de la moyenne pour 5 expériences.

travail récent (Mayet et Nibelle, 1970) nous avons étudié l'évolution des concentrations plasmatiques du sodium et du chlore et celle de l'intensité du flux sortant. La concentration plasmatique du sodium atteint une valeur d'équilibre comparable à celle des animaux adaptés à l'eau de mer en moins de dix heures alors qu'il faut environ 48 heures pour que le réajustement du flux sortant soit complet.

ANIMAUX HYPOPHYSECTOMISÉS OU
INTERRÉNALECTOMISÉS.

Nous n'avons pas étudié le transfert d'eau douce en eau de mer après hypophysectomie. Il semble qu'après hypophysectomie le réajustement du flux sortant soit ralenti comme l'ont montré les travaux de Stanley et Fleming (1966) chez *Fundulus kansae*. En effet, 12 heures après le transfert en eau de mer, le flux sortant observé chez les animaux opérés-témoins est double de celui mesuré chez les animaux hypophysectomisés.

Nous avons également observé un ralentissement du réajustement du flux sortant chez les anguilles

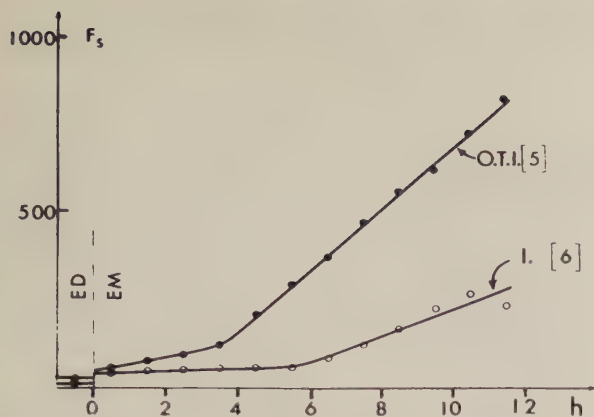


FIG. 19. — Mesure du flux sortant exprimé en $\mu\text{Eq/h/100 g}$, en fonction du temps au cours du transfert d'eau douce en eau de mer chez l'anguille.

● = O.T.I. = Opéré-témoin d'interrénalectomie.

○ = I = interrénalectomisés.

Entre crochets, le nombre d'animaux.

interrénalectomisées, comme le montre la figure 19. Les deux glandes participeraient donc au réajustement des flux, en particulier des flux sortants, en permettant une accélération des échanges et l'installation d'un flux net d'excrétion branchiale.

b) Transfert d'eau de mer en eau douce.

ANIMAUX INTACTS OU HYPOPHYSECTOMISÉS.

Nous avons examiné en détail (Chap. I) comment évolue la balance minérale chez les animaux intacts et hypophysectomisés dans l'heure qui suit le changement de milieu, puis au cours des deux premières journées en eau douce. L'évolution du flux sortant, pendant la première heure, en eau douce, a été à nouveau représentée sur la figure 20 afin de permettre la comparaison avec les animaux interrénalectomisés.

ANIMAUX INTERRÉNALECTOMISÉS.

Après interrénalectomie, rappelons que le flux sortant en eau de mer est diminué d'un facteur 3 par rapport aux animaux intacts, aux opérés-témoins et aux interrénalectomisés recevant du cortisol.

Dès la première demi-heure qui suit le transfert en eau douce, on assiste chez les animaux intacts à une réduction importante « par échange-diffusion » du flux sortant qui porte sur plus de 80 % de sa valeur initiale en eau de mer. Cette composante serait beaucoup plus réduite chez les animaux interrénalectomisés. Les flux sortants mesurés pendant la première demi-heure après changement de milieu ne sont pas significativement différents chez les animaux intacts, hypophysectomisés, interrénalectomisés recevant ou non du cortisol (fig. 20).

La présence du cortisol semble donc très importante dans le maintien du fonctionnement branchial normal de la branchie en eau de mer, moins importante en eau douce. Cette déficience de l'excrétion du sel, consécutive à l'absence de cortisol chez les animaux interrénalectomisés conservés en eau de mer, retentit sur la concentration plasmatique du sodium. Ainsi, après un séjour de deux heures en eau douce la concentration plasmatique du sodium est encore anormalement élevée ($187,7 \pm 6,6 \text{ mEq/l}$). Au contraire, la concentration plasmatique du sodium est tout à fait comparable chez les anguilles ayant reçu du cortisol ($136,6 \pm 4,2 \text{ mEq/l}$) et chez les animaux opérés-témoins ($139,8 \pm 4,8 \text{ mEq/l}$).

La figure 20 montre également qu'une seconde régulation a lieu réduisant le flux sortant quelle que soit l'ablation que les animaux ont subie. Il est donc possible que la régulation secondaire, que nous avions supposée être dépendante des glandes endocrines dans notre hypothèse de travail, échappe au contrôle endocrinien, tout au moins à celui de l'hypophyse et de l'interrénalectomie. De nouvelles recherches sont cependant nécessaires étant donné la variabilité de ces résultats, obtenus sur un nombre réduit d'animaux.

Il apparaît donc que l'axe hypophyse-interrénalectomie joue un rôle capital dans l'équilibre minéral des animaux. Le cortisol, glucocorticoïde chez les mam-



FIG. 20. — Evolution des flux sortants de sodium chez Anguilla anguilla au cours du transfert d'eau de mer en eau douce. Les flux sont exprimés en mEq/h/100 g .

N = animaux intacts ; H = animaux hypophysectomisés ; O.T.I. + Cort. = animaux opérés-témoins d'interrénalectomie recevant du cortisol ; I + Cort. = animaux interrénalectomisés recevant du cortisol ; I = animaux interrénalectomisés. Entre parenthèses le nombre d'animaux étudiés.

Les colonnes grisées représentent les flux mesurés en eau de mer. Les colonnes blanches représentent les flux mesurés pendant des périodes successives d'une demi-heure.

mifères, est, sans équivoque, un minéralocorticoïde chez les poissons. Son action sur les échanges branchiaux varie selon la direction de la pompe ionique branchiale : facteur d'absorption branchiale en eau douce, le cortisol est un facteur d'excrétion sodique chez les animaux en eau de mer.

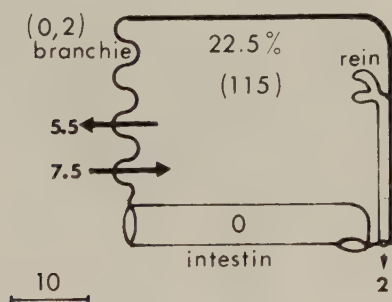
Nous discuterons dans le chapitre suivant des modalités de la sécrétion de l'hypophyse, de l'interrénal ainsi que de l'interdépendance de ces deux glandes. Les modes d'action possibles du cortisol sur les effecteurs de l'osmorégulation seront également discutés.

III. DISCUSSION GÉNÉRALE SUR LES HORMONES ÉTUDIÉES

Nous allons, en ce qui concerne les deux groupes d'hormones qui nous ont intéressés, aborder trois des problèmes principaux liés à l'osmorégulation chez les poissons.

- Quels sont les organes-cibles de ces hormones ?
- Quel est leur mode d'action au niveau cellulaire ?
- Comment leur sécrétion s'intègre-t-elle dans les servo-mécanismes osmorégulateurs ?

E.D.



E.M.

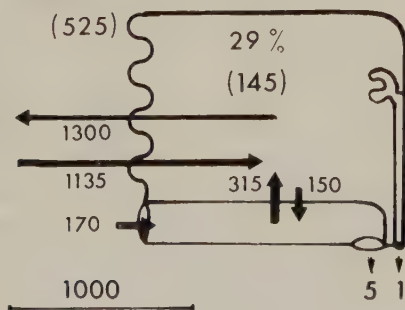


FIG. 21. — Balance minérale du sodium chez les animaux adaptés à l'eau douce (ED) et à l'eau de mer (EM). Les flèches représentent les flux exprimés en $\mu\text{Eq}/\text{h}/100\text{ g}$. Entre parenthèses, les concentrations respectives du sodium dans le milieu intérieur et le milieu extérieur.

A) Quels sont les organes-cibles de ces hormones ?

Les organes qui, à priori, seront les effecteurs de l'osmorégulation sont à chercher parmi les lieux possibles d'échanges entre le milieu intérieur et le milieu extérieur, à savoir : la peau, les branchies, l'intestin, le rein. Nous essaierons de dissocier ceux qui semblent les effecteurs principaux de la prolactine de ceux impliqués dans l'axe hypophyse-interrénal.

Le problème de la régulation de l'équilibre hydro-minéral est dépendant de la salinité du milieu extérieur ; aussi distinguerons-nous le cas des poissons adaptés à l'eau douce de celui des poissons adaptés à l'eau de mer.

1. Animaux adaptés à l'eau douce

La figure 21 permet de résumer de façon simple comment le poisson en eau douce maintient son équilibre minéral : la perte urinaire d'électrolytes et la perte par diffusion au niveau de l'épithélium branchial sont compensées par une absorption active au niveau de ce dernier. C'est donc parmi ces deux effecteurs principaux que nous devons chercher la déficience apparaissant à la suite de l'hypophysectomie et de l'interrénalectomie, déficience responsable de la déminéralisation que l'on observe après l'une ou l'autre ablation.

a) Effecteur rénal.

Les bilans minéraux que nous avons dressés sont globaux. En particulier le flux sortant mesuré peut être d'origine branchiale ou urinaire. Chez 5 *Fundulus heteroclitus* hypophysectomisés, nous avons établi un bilan précis des échanges de sodium après mise en place d'un cathéter dans la papille urinaire. L'excrétion urinaire est mesurée pendant 5 heures en eau de mer puis, après une période de rinçage d'une heure en eau douce, les différents flux sont mesurés simultanément. La figure 22 illustre les résultats obtenus.

En eau de mer, le flux sortant urinaire est très faible, environ 1 % du flux sortant total (mesures faites chez des animaux hypophysoprives au cours d'expériences indépendantes). Dans les quelques heures qui suivent le transfert en eau douce, le flux sortant reste encore négligeable (environ 4 % du flux total). Le lendemain du transfert, la part de l'excrétion urinaire du sodium a augmenté mais elle ne représente encore qu'un sixième du flux sortant total. Le flux sortant branchial des animaux hypophysoprives est alors de l'ordre de $50\ \mu\text{Eq}/\text{h}/100\text{ g}$, valeur nettement plus importante que le

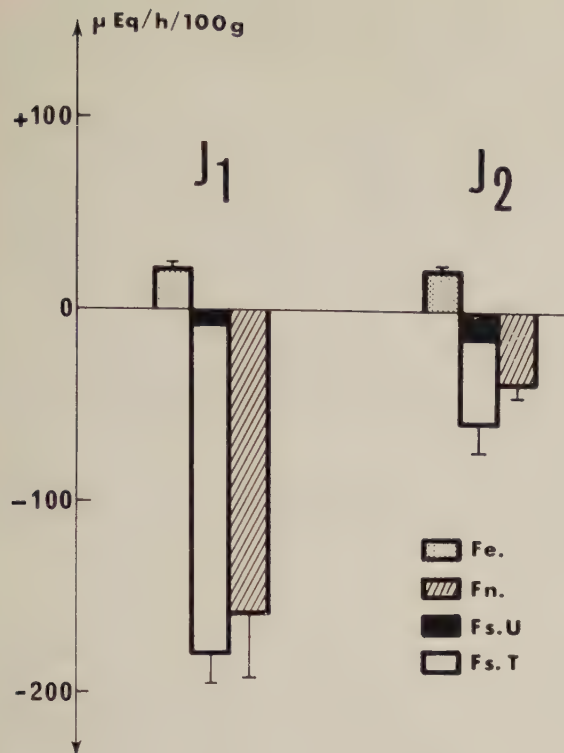


FIG. 22. — Comparaison des composantes de la balance minérale du sodium chez *Fundulus heteroclitus* hypophysectomisés, après transfert d'eau de mer en eau douce. Importance relative de l'excrétion urinaire du sodium dans le flux sortant total. Les flux sont exprimés en $\mu\text{Eq/h/100 g}$ ($n = 5$).

flux sortant total mesuré chez les animaux-témoins ou les animaux-hypophysectomisés et traités à la prolactine. Ceci tendrait à prouver que la branchie est le site principal des pertes excessives de sodium. Chez l'anguille adaptée à l'eau douce, Butler (1966) confirme l'importance relativement mineure de l'effecteur urinaire. L'hypophysectomie produit une augmentation de la concentration du sodium urinaire mais elle produit parallèlement une diminution du débit urinaire telle que la quantité de sodium excrétée se trouve significativement diminuée. Stanley et Fleming (1967) ont également observé, chez *Fundulus kansae*, des changements dans le travail de l'effecteur rénal à la suite de l'hypophysectomie : concentration du sodium urinaire plus élevée accompagnée d'une diminution du débit urinaire.

L'effecteur rénal est donc probablement moins important que l'effecteur branchial, cependant son fonctionnement se trouve perturbé après l'ablation de l'hypophyse ou de l'interréna.

Rôle de la prolactine sur l'effecteur rénal. — Selon Stanley et Fleming (1967) la prolactine agit chez *Fundulus kansae* en permettant une augmentation du débit urinaire et une diminution de la quantité de sodium excrétée par le rein chez les

animaux hypophysectomisés. Lahlou et Giordan (1970) observent chez un poisson sténohalin, *Carassius auratus*, une action comparable de la prolactine. Selon ces auteurs, elle est capable de restaurer le débit urinaire déficient après hypophysectomie et de diminuer la perte rénale de sodium, accrue après l'ablation de l'hypophyse. La prolactine serait donc active au niveau rénal en tant qu'hormone régulant le métabolisme de l'eau et des électrolytes.

Rôle du cortisol sur l'effecteur rénal. — Chan et al. (1968) ont montré, chez l'anguille, que débit urinaire et concentrations urinaires, perturbés après interrénélectomie, sont maintenus normaux par le cortisol.

Chez *Carassius* hypophysectomisé, le cortisol n'a pas d'effet sur le débit mais réduit la concentration du sodium urinaire et tend à la ramener à la normale.

b) Effecteur branchial.

Nous envisagerons successivement le rôle de la prolactine et du cortisol sur les flux unidirectionnels.

Rôle de la prolactine. — Nous avons vu que la prolactine est capable de réduire les pertes excessives de sel qui suivent l'ablation de l'hypophyse chez *Fundulus heteroclitus*, alors qu'elle reste sans action sur l'absorption. Ces résultats ont été obtenus chez cette même espèce par Potts et Evans, (1966) et chez *Paecilia latipinna* par Ensor et Ball (1968).

Chez d'autres cyprinodontes qui meurent également en eau douce après hypophysectomie, l'action de la prolactine semble plus efficace, agissant à la fois sur le flux sortant et sur le flux entrant. C'est le cas de *Tilapia mossambica* étudié dans notre laboratoire par Dharmamba (1969) et de *Fundulus kansae* étudié par Ball et Ensor (1969). Chez l'anguille, qui survit après ablation de l'hypophyse, nous avons vu que la prolactine était capable également de réduire les pertes de sodium. Son action sur le flux entrant est moins nette.

A la suite de ces résultats, il est donc difficile de conclure de façon absolue quant à une action définie de la prolactine dont le rôle est par ailleurs important pour maintenir une balance minérale équilibrée chez certains poissons.

Rôle du cortisol. — Nous avons vu que l'interrénélectomie s'accompagne d'une réduction significative de l'absorption des ions. Il semble donc que le cortisol agisse au niveau branchial puisque

l'injection de faibles doses de cortisol permet un retour vers une absorption normale (Chester-Jones *et al.*, 1967 ; Chan *et al.*, 1968). L'injection de fortes doses de cortisol provoque au contraire une augmentation du flux sortant, cette augmentation étant, par ailleurs, caractéristique chez les poissons choqués. Le choc s'accompagne, en outre, d'une augmentation de la cortisolémie qui n'est plus observée après hypophysectomie (Donaldson et McBride, 1967). On peut donc admettre qu'une auto-injection d'A.C.T.H. peut produire une augmentation temporaire du cortisol circulant et que celui-ci est alors responsable de la fuite de sodium. Cette dualité d'action du cortisol selon la dose injectée demanderait à être vérifiée à l'aide de techniques isotopiques.

c) Autre effecteur : la peau.

Les cellules à mucus qui abondent dans la peau comme dans l'épithélium branchial sont affectées par l'hypophysectomie (Burden, 1956 ; Schreibman et Kallman, 1966). Il est possible que, chez l'animal hypophysectomisé, l'imperméabilité de la peau soit ainsi diminuée, expliquant en partie les fuites de sodium observées. Le rôle protecteur de la prolactine interviendrait alors au niveau de la branchie et de la peau. Un travail récent (Lahlou et Giordan, 1970) montre que l'injection de prolactine produit, au niveau de la branchie de *Carassius auratus*, une augmentation de la perméabilité à l'eau. Donc le

rôle « protecteur » de la prolactine en eau douce concerne peut-être les électrolytes mais certainement pas l'eau.

Ainsi, en eau douce, il semble que le maintien d'une balance hydro-minérale équilibrée résulte de l'action coordonnée de la prolactine et du cortisol ; mais selon les espèces l'une ou l'autre de ces deux hormones présente un rôle prédominant. Chan *et al.* (1968) ont abouti à des conclusions identiques. Ils ont montré que prolactine et cortisol sont nécessaires pour maintenir en équilibre la balance des électrolytes et la teneur du muscle en eau des anguilles hypophysectomisées adaptées à l'eau douce.

Nous avons illustré (fig. 23), comment nous envisageons de façon simplifiée l'action de ces hormones sur les effecteurs de l'osmorégulation.

2. Animaux adaptés à l'eau de mer

La figure 21 permet de résumer les mécanismes du maintien de l'équilibre minéral d'un poisson adapté à l'eau de mer. Ces animaux doivent faire face à des problèmes opposés à ceux des animaux adaptés à l'eau douce et possèdent des moyens différents pour les résoudre. Les observations de Motais et Maetz (1965), Motais *et al.* (1966), Lahlou (1967), Smith (1930), Keys et Willmer (1932), Bateman et Keys (1932), Keys (1933), Sharratt *et al.* (1964), Maetz et Skadhauge (1968) montrent qu'en eau de mer, les poissons boivent et excrètent activement le sel par la branchie tandis que le débit urinaire se trouve réduit, minimisant ainsi les pertes d'eau rénales. Les deux effecteurs principaux seraient donc la branchie et l'intestin.

Nous avons remarqué que l'hypophysectomie réalisée chez les anguilles adaptées à l'eau de mer ne s'accompagne pas d'une variation de la natrémie. Dans ce cas, les pertes urinaires étant négligeables, l'observation d'une diminution des échanges signifie qu'il se produit une compensation par une diminution parallèle de l'absorption intestinale.

a) Effecteur intestinal.

En eau de mer, l'intestin est le site d'absorption du sel, celle-ci étant d'autant plus importante que la salinité externe est plus grande (Skadhauge, 1969). Cette absorption intestinale est diminuée après hypophysectomie (Hirano, 1967 ; Utida *et al.*, 1969). Hirano et Utida (1968) ont montré que, parmi les hormones hypophysaires testées, seule l'A.C.T.H. est active à faibles doses sur l'intestin de l'anguille et parmi les corticostéroïdes examinés, seuls cortisol et cortisol acétate à faible dose augmentent cette absorption. Il apparaît donc que le transport d'eau et d'électrolytes à travers l'intestin est sous la dépendance du cortisol.

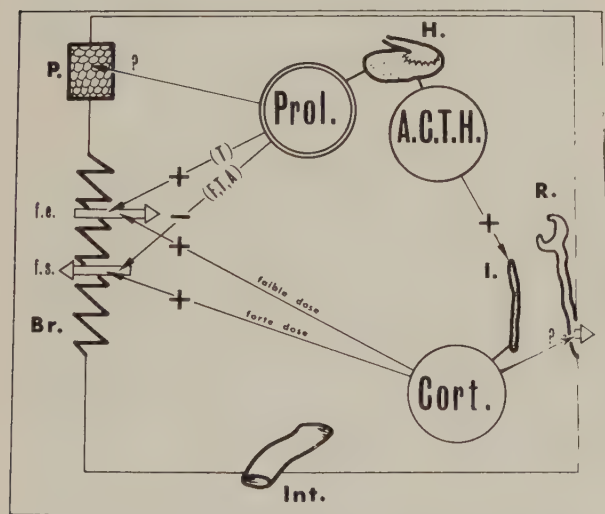


FIG. 23. — Action des hormones étudiées sur les effecteurs de l'osmorégulation chez les poissons euryhalins adaptés à l'eau douce.

H = hypophyse ; I = interrénal ; Prol = prolactine ; Cort. = cortisol ; Br = branchie ; P = peau ; R = rein ; Int = intestin.

(T) = *Tilapia mossambica* ; (F.T.A.) = *Fundulus heteroclitus*, *Tilapia mossambica*, *Anguilla anguilla*.

+= augmentation des flux.

- = diminution des flux.

Le rôle prépondérant de la prolactine pour certains poissons en eau douce a été souligné par un double cercle.

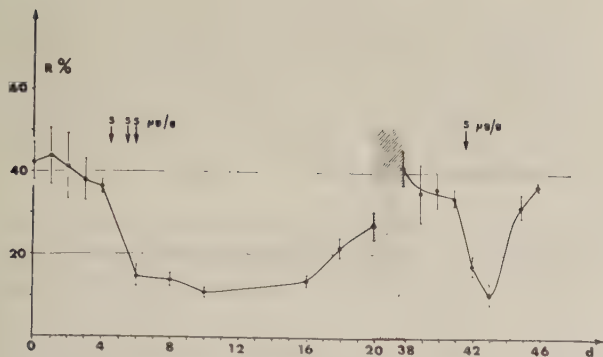


FIG. 24. — *Fundulus heteroclitus* intacts adaptés à l'eau de mer. Effet, en fonction du temps exprimé en jours, d'un traitement prolactinique sur la fraction renouvelée du sodium par heure (en % de la masse de sodium échangeable).

Moyenne et erreur standard de la moyenne pour 4 poissons.

b) Effecteur branchial.

Rôle de la prolactine. — Nous avons vu qu'à la suite de l'hypophysectomie les échanges de sodium sont diminués et que la prolactine est incapable de permettre un retour vers un taux d'échanges normal. On est tenté de conclure qu'en eau de mer la glande se trouve en état de repos. Les cellules « eta » qui sécrètent la « prolactine » chez les poissons, groupées en un lobe rostral distinct ayant des affinités tinctoriales particulières (érythrosinophilie) (Olivereau et Ball, 1964), sont en effet apparemment plus actives en eau douce qu'en eau de mer (Ball et Olivereau, 1965 ; Knowles et Vollrath, 1966 et Dharmamba et Nishioka, 1968). Par ailleurs, Sage (1968) a montré, *in vitro*, que les cellules à prolactine, d'hypophyses de *Xiphophorus*, sont d'autant plus actives (signes histologiques d'hyperactivité) que le milieu de culture est plus dilué. Nous avons essayé de vérifier si la prolactine a ou n'a pas d'action sur les échanges de sodium, en l'injectant à des animaux intacts. Chez l'anguille, la fraction renouvelée par heure de la masse de sodium échangeable est de $37,0 \pm 3,35 \%$ pour 12 animaux intacts ; elle est de $38,1 \pm 3,12 \%$ chez 13 anguilles intacts ayant reçu de la prolactine, différence de toute évidence non significative. La mesure directe des flux sortants confirme cette absence d'action de la prolactine. Les flux sortants mesurés chez 4 anguilles ayant reçu de la prolactine et chez des anguilles normales sont respectivement de $1\,312 \mu\text{Eq/h}/100 \text{ g}$ et $1\,310 \mu\text{Eq/h}/100 \text{ g}$. Il apparaît donc que, chez l'anguille adaptée à l'eau de mer, la prolactine n'a aucun effet sur la balance minérale.

Au contraire, chez *Fundulus heteroclitus* la prolactine injectée à des animaux intacts provoque une réduction importante des échanges de sodium, dont on trouvera l'illustration dans la figure 24. Le même effet a été retrouvé chez *Tilapia mossambica* par Dharmamba dans notre laboratoire. L'injection de prolactine s'accompagne de plus, d'une

augmentation de la concentration plasmatique du sodium. Celle-ci, qui pourrait résulter de l'inhibition de l'excrétion branchiale de cet électrolyte, s'effectue parallèlement à la réduction du flux sortant. L'étude récente des évaluations comparées du contenu prolactinique des hypophyses (selon des critères biologiques), chez un autre cyprinodonte, *Paecilia latipinna* (Ensor et Ball, 1968) a montré que la réduction effective de cette activité en eau de mer est moindre que l'examen histologique ne l'avait suggéré.

Le rôle de la prolactine dans le maintien de la balance minérale chez les animaux adaptés à l'eau de mer semble donc variable selon les espèces et n'apparaît pas comme essentiel.

Rôle du cortisol. — Un aspect classique de l'action des stéroïdes est de favoriser l'absorption ou la rétention sodique ; au contraire, il est moins fréquent que ces substances favorisent l'excrétion des ions sodium. Or nous avons montré le rôle capital du cortisol au niveau de l'effecteur branchial : renouvellement du sodium et maintien d'un flux net d'excrétion indispensable à assurer la constance ionique du milieu intérieur. En fait, les conditions d'équilibre ionique auxquelles la branchie du poisson marin est soumise sont à rapprocher des conditions physiologiques, liées à l'écologie, dans lesquelles se trouvent certains animaux comme les oiseaux marins. En effet, l'étude de ces derniers montre qu'ils possèdent une glande spéciale : « la glande à sel », lieu d'élimination des excès de sodium et que, chez ces animaux, les corticostéroïdes sont les hormones nécessaires à cette excrétion (Holmes et Phillips, 1965).

Nous avons illustré (fig. 25), comment nous envi-

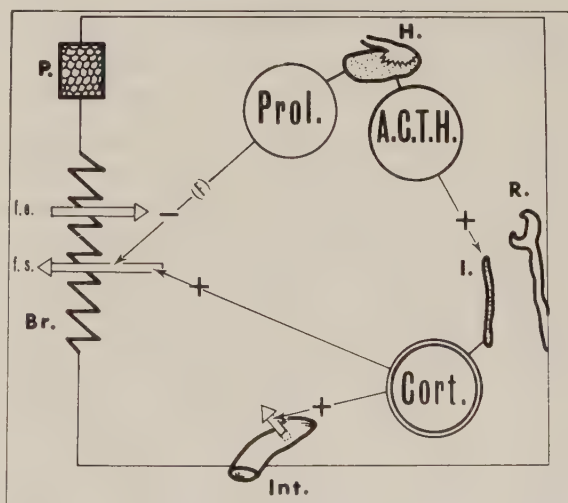


FIG. 25. — Action des hormones étudiées sur les effecteurs de l'osmorégulation chez les poissons euryhalins adaptés à l'eau de mer.

Mêmes abréviations et symboles que pour le schéma précédent.

Le rôle prépondérant du cortisol en eau de mer a été souligné par un double cercle.

sageons de façon simplifiée l'action de ces hormones sur les effecteurs de l'osmorégulation.

B) Mode d'action des hormones au niveau cellulaire.

Pour étudier le mode d'action des hormones au niveau des organes effecteurs de l'osmorégulation, la connaissance des mécanismes intimes qui président aux échanges ioniques est une étape essentielle qui fait actuellement l'objet de nombreuses investigations.

Les hormones peuvent modifier le fonctionnement de l'organe-cible de deux façons : en stimulant la différenciation de nouvelles cellules ou en stimulant la synthèse de nouvelles molécules fonctionnelles à l'intérieur de cellules préexistantes.

1. Division cellulaire et différenciation cellulaire de novo

Les observations rapportées par Conte et Lin (1967) montrent que les cellules épithéliales de la branchie d'*Onchorhynchus*, se divisent plus activement pendant l'adaptation de ce poisson à l'eau de mer. Ces observations suggèrent que certaines divisions cellulaires dépendent d'un contrôle endocrinien. Des travaux récents confirment également que les hormones interviennent dans la réplication associée à la division cellulaire (Turkington, 1968). Ainsi pour le fonctionnement d'un effecteur comme la glande mammaire, différentes hormones sont impliquées ; l'insuline et la S.T.H. sont nécessaires pour induire la prolifération des cellules, mais échouent pour induire la différenciation cellulaire indispensable à la synthèse de la caséine ; le cortisol et la prolactine assument ce rôle. En ce qui concerne l'osmorégulation, Bern et Nicoll (1968) ont suggéré que la prolactine serait responsable de la différenciation des cellules à mucus.

Si la présence des cellules à mucus est capable de modifier la perméabilité passive aux ions (ce qui reste à démontrer), cette hypothèse permettrait de comprendre comment la prolactine réduit les fuites de sodium et pourquoi une latence d'au moins une journée est nécessaire, après le transfert des poissons en eau douce, pour que cette action soit visible. Leatherland et Lam (1969) ont montré que l'injection de prolactine chez *Gasterosteus* maintient une densité importante de cellules à mucus dans la branchie, par comparaison à des poissons intacts ou recevant le solvant.

2. Synthèse de nouvelles molécules fonctionnelles à l'intérieur des cellules préexistantes

L'hormone peut agir en favorisant la synthèse de protéines spécialisées dans le transport des ions.

Ainsi, les minéralocorticoïdes et plus spécialement l'aldostérone, qui active le transport de sodium dans la vessie et la peau des amphibiens ou dans les tubules rénaux des mammifères, est également capable d'induire la transcription du DNA nucléaire et RNA messager.

Il existe toujours un délai entre l'injection de l'hormone et l'observation de l'effet sur le transport de sodium. Cette latence peut être considérée comme nécessaire pour qu'une action au niveau de la synthèse des protéines prenne place. En effet, certains antibiotiques connus comme inhibiteurs de la synthèse des protéines au niveau nucléaire (actinomycine D) ou ribosomal (cycloheximide) suppriment l'action du stéroïde. Deux hypothèses ont été émises quant aux protéines impliquées dans le transport de sodium et dont la synthèse serait bloquée par les antibiotiques. Pour Fanestil et Edelman (1966) les enzymes responsables de la production de l'énergie nécessaire au transport actif doivent être synthétisés. Pour Sharp et Leaf (1966a et b) ainsi que pour Crabbe (1967), le facteur limitant l'entrée du sodium dans l'épithélium à partir du côté muqueux serait la production d'une sorte de « perméase au sodium » qui devrait être augmentée. En fait, le problème de l'action des hormones au niveau des pompes ioniques branchiales présentes chez les poissons euryhalins, est plus complexe puisque la pompe est active dans un sens ou dans l'autre selon la salinité du milieu externe. Si l'on imagine que l'hormone agit de façon semblable en eau douce et en eau de mer, ce qui est probable puisque le niveau du cortisol circulant est le même chez les animaux adaptés à l'eau douce et à l'eau de mer (Hirano et Utida, expériences préliminaires ; Forster, communication personnelle), la différence dans les effets doit être recherchée dans le fonctionnement de base des cellules. Cette hypothèse a été confirmée pour certains enzymes. L'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}$ dépendante est considérée par les uns comme étant la « pompe à électrolytes » assurant l'excrétion du sodium hors des cellules en permettant simultanément l'entrée du potassium, par les autres comme le facteur limitant de l'utilisation de l'énergie cellulaire nécessaire au transport actif. Cet enzyme est en effet présent aussi bien dans la branchie de l'anguille (Utida *et al.*, 1966) que dans celle de *Fundulus* (Epstein *et al.*, 1967) et son activité est augmentée après adaptation à l'eau de mer.

De plus, Pickford *et al.* (1969) ont montré qu'un traitement par le cortisol produit une augmentation de l'activité ATPasique $\text{Na}^+ - \text{K}$ dépendante dans les organes impliqués dans l'osmorégulation chez *Fundulus heteroclitus* hypophysectomisé et adapté à l'eau de mer, en particulier de la muqueuse intestinale et de la branchie. Ainsi, non seulement la quantité d'enzyme est différente selon le

milieu d'adaptation mais elle serait subordonnée à l'action du cortisol. Les hormones semblent donc stimuler la formation de nouvelles cellules ayant des fonctions spécialisées ou la synthèse de molécules spécifiques à l'intérieur de cellules préexistantes.

On peut encore imaginer que l'hormone lèverait une inhibition : la molécule transporteur étant présente mais inactive. Ce problème a été récemment discuté par Maetz *et al.* (1969) à propos de l'action des antibiotiques sur l'osmorégulation chez les anguilles.

Le mode d'action du cortisol chez les animaux adaptés à l'eau douce pose quelques problèmes d'interprétation. Nous avons vu en effet que, chez ces animaux, l'hormone pouvait avoir des effets opposés selon les doses injectées. La qualité du milieu externe n'ayant pas varié, on ne peut dans ce cas invoquer une variation de l'état fonctionnel de base des cellules épithéliales branchiales pour expliquer l'action du cortisol sur les échanges de sodium. Cependant on peut supposer, par exemple, que le cortisol en faible dose agit en permettant la synthèse d'une pompe d'absorption de sodium selon un schéma comparable à celui proposé pour l'action de l'aldostérone sur la vessie des amphibiens (Sharp et Leaf, 1966). Au contraire, une forte dose pourrait induire la synthèse de la molécule transporteur caractéristique des animaux adaptés à l'eau de mer, et dans ce cas les pertes seront accrues.

C) Intégration dans les mécanismes d'osmorégulation.

Nous allons envisager successivement comment la boucle régulatrice peut être schématisée dans le cadre du maintien de la constance ionique du milieu intérieur puis quels peuvent être les facteurs assurant la mise en fonctionnement de cette boucle régulatrice et enfin comment la réception de l'information peut se faire au niveau du centre régulateur.

1° Boucle régulatrice assurant l'équilibre hydro-minéral.

Trois éléments sont impliqués dans le fonctionnement d'un tel système servo-mécanique : un « détecteur » de la variation qui correspond à un signal d'entrée, un « centre régulateur » précédé ou non de systèmes amplificateurs, enfin, un « effecteur » qui module son activité donnant un signal de sortie contrôlé.

Détecteur de la variation. — Dans le cas de l'osmorégulation, la variation sera, par exemple, un changement de la salinité ou de l'osmolalité du

milieu extérieur ou intérieur. Le détecteur de la variation peut en conséquence être périphérique et envoyer l'information reçue par l'intermédiaire du système nerveux, ou bien, il peut être un récepteur interne, sensible et spécialisé (osmorécepteur-chémorécepteur). Le détecteur peut également être le centre régulateur lui-même.

Pratiquement rien n'est connu chez les poissons en ce qui concerne les transducteurs biologiques responsables de la détection et de la transmission. Cependant certains auteurs, entre autres Oshima *et al.* (1969) et Laurent (1967) ont respectivement suggéré que le bulbe olfactif et la pseudo-branchie pourraient jouer un rôle dans la détection de telles variations.

Centre régulateur. — Il s'agit généralement d'une glande endocrine ou d'un centre nerveux. Le centre régulateur modifie son fonctionnement en réponse à la stimulation reçue, par exemple en changeant son taux de sécrétion. En ce qui concerne l'osmorégulation, nous ne considérerons que l'hypophyse comme régulateur de la sécrétion de la prolactine et le système hypophyse-interrénal comme régulateur de la sécrétion de cortisol.

Effecteur. — Celui-ci, sous l'effet des sécrétions déclenchées ou stoppées par le centre régulateur, modifie le bilan des échanges qu'il contrôle, et corrige ainsi la variation initiale responsable du changement d'activité de la boucle régulatrice.

2° Mise en fonctionnement de la boucle régulatrice.

Nous disposons actuellement de quelques résultats préliminaires intéressant la mise en route d'un tel servo-mécanisme (Mayer et Nibelle, 1970). Expérimentalement nous pouvons en effet :

- a) provoquer une variation interne ou externe, par exemple : infusion hypersaline ou hyposaline ou bien passage d'eau douce en eau de mer ;
- b) observer les modifications, consécutives à cette variation du travail de l'organe effecteur. Le cas des poissons euryhalins est exceptionnel puisque le même organe effecteur se trouve dans un état fonctionnel différent selon la salinité du milieu d'adaptation.

Animaux adaptés à l'eau douce. — L'infusion d'une solution hypersaline produit une modification des flux unidirectionnels : l'absorption se trouve diminuée tandis que l'excrétion est augmentée. Il s'est donc produit une régulation qui tend à corriger l'effet produit par l'intervention. Des résultats comparables ont été obtenus chez *Carassius auratus* (Bourguet *et al.* 1964).

Animaux adaptés à l'eau de mer. — Une surcharge saline produit une augmentation du flux sortant qui a pour effet d'éliminer le sel apporté en excès, tandis qu'une déplétion sodique produit une diminution du flux sortant.

Dans tous les cas, on observe donc qu'une modification de la salinité du milieu intérieur est suivie d'une correction qui permet un retour à l'équilibre initial. Cette correction est réalisée au niveau des effecteurs de l'osmorégulation. Deux remarques importantes peuvent être faites à propos de ces expériences : d'une part, il existe toujours une latence entre la variation de la concentration du sodium plasmatique et l'apparition de la réponse de l'effecteur ; d'autre part, la réponse se prolonge au-delà de la variation qui lui a donné naissance. Ces deux observations sont des arguments qui plaident en faveur de l'existence d'une boucle disposant d'un relai endocrinien.

Variation de la salinité externe : passage eau douce - eau de mer. — Dans ce cas, la détection de la variation peut être externe. Mais étant donné que le flux entrant est supérieur au flux sortant et que la concentration des électrolytes plasmatiques augmente, la détection peut également être interne. L'étude comparée et simultanée des cinétiques, d'une part de l'évolution des concentrations du sodium plasmatique et d'autre part du réajustement du flux sortant au cours du transfert d'eau douce en eau de mer, tend à montrer premièrement que les variations de la concentration plasmatique précèdent le réajustement et deuxièmement que celui-ci se poursuit quand les concentrations sont stabilisées. Ces décalages tendraient à prouver qu'un système régulateur de type endocrinien intervient. En fait, au point actuel du développement de nos recherches, une certaine prudence doit être conservée quant à l'interprétation des latences observées, car nous ignorons tout du système de détection mis en jeu et de son inertie. On peut par exemple expliquer le premier retard en admettant que le détecteur est vasculaire et qu'il est mis en jeu au-delà d'un certain écart de la concentration plasmatique par rapport à la concentration existante. Dans ce cas le réajustement du flux sortant est nécessairement postérieur au changement de la salinité externe qui, lui, est instantané.

3° Réception de l'information et modulation des sécrétions au niveau du centre régulateur.

Actuellement nos connaissances relatives aux voies afférentes qui informent le centre régulateur, l'hypophyse par exemple, sur l'évolution de l'un des paramètres du milieu intérieur sont peu nombreuses. Nous nous en tiendrons aux centres régulateurs de la sécrétion des hormones étudiées.

a) *Régulation de la sécrétion de prolactine.* — L'hormone que nous avons utilisée au cours de nos expériences est une prolactine ovine, mais il semble démontré qu'un facteur prolactinique, que Ball (1965) a proposé d'appeler « paralactine », soit présent dans l'hypophyse des poissons (revue de Bern et Nicoll, 1968). Actuellement le dosage de la prolactine circulante n'est pas encore réalisé. En dehors des critères histologiques que nous avons donnés quant au déterminisme de la sécrétion de cette hormone, seules les expériences de Sage (1968) apportent quelques précisions. Ce serait en effet la variation de l'osmolarité qui induirait un changement de l'activité des cellules « eta » responsables de la sécrétion de la « paralactine » (hypophyses de *Xiphophorus* en cultures). Le problème du stimulus efficace demeure encore entier : l'osmolarité est-elle le facteur actif ou est-ce la variation de la concentration d'un ion qui est déterminante ?

b) *Régulation des sécrétions de corticotrophine et de corticostéroïde.* — Le système hypophyse-interrénal est plus complexe. On peut considérer que l'on est en présence de deux centres régulateurs en série. Nous avons déjà donné des preuves de la subordination du fonctionnement de l'interrénal à celui de l'hypophyse mais on peut s'interroger sur l'étroitesse d'une telle dépendance.

Chez les anguilles adaptées à l'eau douce, Bradshaw et Fontaine-Bertrand (1968) ont montré que le taux de cortisol circulant diminue après hypophysectomie et devient pratiquement nul au-delà du quatrième jour. Pour Butler *et al.* (1969) le taux de cortisol diminue également après hypophysectomie mais se maintient ensuite à un niveau constant. Nous avons observé chez les anguilles en eau douce que le flux entrant n'est pas diminué après hypophysectomie alors qu'il est réduit d'un facteur 2 après interrénalectomie. Si le maintien d'un flux entrant actif nécessite la présence du cortisol, on doit admettre qu'il existe une sécrétion de base de cortisol qui échappe au contrôle hypophysaire. En eau de mer, nous avons montré que, chez les anguilles, l'hypophysectomie n'entraîne pas une mise au repos totale de l'interrénal. Rappelons que les valeurs obtenues pour la fraction de sodium renouvelée à l'heure atteint 20 % après hypophysectomie alors qu'elle est de 6 % seulement après interrénalectomie. Là encore une partie seulement du fonctionnement de l'interrénal pourrait être sous la dépendance de l'hypophyse.

Cette remarque nous conduit à nous interroger sur le rôle de l'interrénal en tant que centre régulateur autonome possédant ses propres voies afférentes. Par ailleurs, comme l'hypophyse est capable de moduler la sécrétion d'A.C.T.H. en dehors du système « feed-back : Cortisol - A.C.T.H. » il est nécessaire d'invoquer la présence d'autres voies afférentes à l'hypophyse.

La voie afférente du centre régulateur interrénal est représentée par la sécrétion du cortisol dont la concentration plasmatique peut être mesurée.

Nous avons déjà mentionné que les concentrations du cortisol chez les animaux adaptés à l'eau de mer et à l'eau douce sont probablement identiques (Hirano et Utida : expériences préliminaires; Forster : communication personnelle). Mais comme cette concentration n'est qu'un indice de l'équilibre entre production et destruction, accompagnée ou non d'une action sur un effecteur, il est nécessaire de connaître la mesure de la demi-vie du cortisol avant d'être totalement affirmatif. Notons qu'il serait intéressant d'associer les expériences de surcharge et de déplétion sodiques à des dosages d'hormone circulante pour vérifier si les variations de la concentration de cette dernière sont ou non à l'origine des changements observés dans le travail de l'effecteur. Les poissons euryhalins semblent représenter un matériel particulièrement favorable à cette étude car, par exemple, une même surcharge saline peut provoquer soit une mise au repos de l'interrénal, comme c'est le cas pour la surrénale des amphibiens ou des mammifères, si le poisson est en eau douce, soit un surcroît d'activité de la glande si le poisson est en eau de mer.

Les seuls résultats relatifs aux variations du taux de cortisol circulant sont celles d'Hirano et Utida (1968). Ces auteurs ont montré que le transfert d'eau douce en eau de mer d'anguilles s'accompagne d'une augmentation transitoire du cortisol circulant. Ils ont également montré qu'un effecteur comme l'intestin pouvait, sous l'effet du cortisol, modifier ses capacités d'absorption : ainsi, des injections de faibles doses de cortisol rendent les capacités d'absorption de l'intestin de l'anguille,

en eau douce, comparables à celles qui existent chez l'animal en eau de mer.

IV. CONCLUSIONS

Nous retiendrons de l'ensemble de cette étude trois points essentiels :

I. — La prolactine est un facteur agissant en « synergie » avec le cortisol chez les animaux adaptés à l'eau douce pour maintenir un flux net d'absorption branchial. Au contraire, en eau de mer, la prolactine, quand elle agit, se présente comme un facteur dont l'action est « antagoniste » à celle du cortisol (réduisant le flux net d'excrétion branchiale tandis que le cortisol l'accroît). Le cortisol doit être considéré chez les poissons adaptés à l'eau de mer comme un minéralocorticoïde, facteur d'excrétion de sel.

II. — Du point de vue des relations entre glande endocrine et organe-cible, une même hormone peut avoir des effets opposés selon l'état fonctionnel dans lequel se trouve l'effecteur. Ainsi, chez les poissons euryhalins, la pompe ionique branchiale est activée sous l'action du cortisol. Selon la direction de cette pompe, on observe une intensification de l'absorption ou de l'excrétion branchiale. Cette ambivalence d'action d'une même hormone apparaît comme un processus original dans les mécanismes endocriniens.

III. — Enfin, il est démontré que l'euryhalinité est liée sans ambiguïté au fonctionnement endocrinien. Ainsi, on peut considérer que *Fundulus heteroclitus* devient un poisson « sténohalin marin » quand il est hypophysectomisé et que *Anguilla anguilla* devient un poisson « sténohalin d'eau douce » quand il est interrénalectomisé.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] R. ACHER, J. CHAUVET, M.T. CHAUVET et D. CRÉPY (1961). — Les hormones neurohypophysaires des poissons : isolement d'une vasotocine du Tacaud (*Gadus luscus*). *Biochim. Biophys. Acta*, **51**, 419-420.
- [2] R. ACHER, J. CHAUVET, M.T. CHAUVET et D. CRÉPY (1962). — Isolement d'une nouvelle hormone neurohypophysaire, l'isotocine, présente chez les poissons osseux. *Biochim. Biophys. Acta*, **58**, 622-629.
- [3] R. ACHER, J. CHAUVET, M.T. CHAUVET et D. CRÉPY (1965). — Caractérisation des hormones neurohypophysaires d'un poisson osseux d'eau douce, la carpe (*Cyprinus carpus*). Comparaison avec les hormones des poissons osseux marins. *Comp. Biochem. Physiol.*, **14**, 245-254.
- [4] R. ACHER, J. CHAUVET, M.T. CHAUVET et D. CRÉPY (1968). — Molecular evolution of neurohypophysial hormones : comparison of the active principles of three bony fishes. *Gen. Comp. Endocrin.*, **11**, 535-538.
- [5] J.N. BALL (1965). — Partial hypophysectomy in the teleost *Poecilia* : separate identities of teleostean growth hormone and teleostean prolactin-like hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **5**, 654-661.
- [6] J.N. BALL et D.M. ENSOR (1965). — Effect of prolactin on plasma sodium in the teleost *Poecilia latipinna*. *J. Endocrin.*, **32**, 269-270.
- [7] J. BALL et D.M. ENSOR (1969). — Aspect of the action of prolactin on sodium metabolism in Cyprinodont fishes. in « La spécificité zoologique des hormones hypophysaires et de leurs activités ». *Coll. Int. du C.N.R.S.*, **177**, 215-224.
- [8] J. BALL et M. OLIVEREAU (1964). — Rôle de la prolactine dans la survie en eau douce de *Poecilia latipinna* hypophysectomisé et arguments en faveur de sa synthèse par les cellules erythrosinophiles « eta » de l'hypophyse des Téléostéens. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **259**, 1443-1446.

- [9] J. BALL et M. OLIVIEREAU (1965). — Pituitary auto-transplants and freshwater adaptation in the Teleost *Poecilia latipinna*. *Amer. Zool.*, **5**, 167 (abstract).
- [10] J.B. BATEMAN et A. KEYS (1932). — Chloride and vapour-pressure relations in the secretory activity of the gills of the eel. *J. Physiol.*, **75**, 26-240.
- [11] H. BERN et Ch. S. NICOLL (1968). — The comparative endocrinology of Prolactin. *Rec. Prog. Horm. Res.*, **24**, 681-719.
- [12] S.D. BRADSHAW et E. FONTAINE-BERTRAND (1968). — Le cortisol dans le plasma de l'anguille, dosé par fluorométrie et par inhibition compétitive de la liaison spécifique cortisol-transcortine. Influence de diverses conditions expérimentales. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **267**, 894-897.
- [13] J. BOURGUET, B. LAHLOU et J. MAETZ (1964). — Modifications expérimentales de l'équilibre hydrominéral et osmorégulation chez *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **4**, 563-576.
- [14] C.E. BURDEN (1956). — The failure of hypophysectomized *Fundulus heteroclitus*, to survive in fresh-water. *Biol. Bull.*, **110**, 8-28.
- [15] D.G. BUTLER (1965). — Adrenocortical steroid production by the interrenal tissue of the fresh water european silver eel (*Anguilla anguilla*) and the marine eel (*Conger conger*) *in vitro*. *Comp. Biochem. Phys.*, **16**, 583-588.
- [16] D.G. BUTLER (1966). — Effect of hypophysectomy on osmoregulation in the european eel (*Anguilla anguilla* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **18**, 773-781.
- [17] D.G. BUTLER, E.M. DONALDSON et W.C. CLARKE (1969). — Physiological evidence for a pituitary adrenocortical feedback mechanism in the eel (*Anguilla anguilla*). *Gen. Comp. Endocrin.*, **82**, 173-176.
- [18] O. CALLAMAND, M. FONTAINE, M. OLIVIEREAU et A. RAFFY (1951). — Hypophyse et osmoregulation. *Bull. Inst. Oceanog.*, **48**, (984) 1-6.
- [19] P. CHAMBOLLE (1967). — Influence de l'injection d'A.C.T.H. sur la survie de *Gambusia* Sp. (poisson téléostéen) privé d'hypophyse. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **264**, 1464-1466.
- [20] D.K.O. CHAN (1969). — Endocrine regulation of calcium and inorganic phosphate balance in the freshwater-adapted teleost fish, *Anguilla anguilla* and *A. japonica* (communication personnelle).
- [21] D.K.O. CHAN, I. CHESTER JONES, I.W. HENDERSON et J.C. RANKIN (1967). — Studies on the experimental alteration of water and electrolyte composition of the eel (*Anguilla anguilla* L.). *J. endocrin.*, **37**, 297-317.
- [22] D.K.O. CHAN, I. CHESTER JONES et W. MOSLEY (1968). — Pituitary and adrenocortical factors in the control of the water and electrolyte composition of the freshwater european eel (*Anguilla anguilla* L.). *J. Endocrin.*, **42**, 91-98.
- [23] I. CHESTER JONES, D.K.O. CHAN et J.C. RANKIN (1969). — Renal function in the european eel (*Anguilla anguilla* L.): effects of the caudal neurosecretory system, corpuscles of Stannius, neurohypophysial peptides and vasoactive substances. *J. Endocrin.*, **43**, 21-31.
- [24] I. CHESTER JONES, I.W. HENDERSON et D.G. BUTLER (1965). — Water and electrolyte flux in the european eel (*Anguilla anguilla*). *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, **54**, 453-469.
- [25] I. CHESTER JONES, I.W. HENDERSON, D.K.O. CHAN et J.C. RANKIN (1967). — Steroids and pressor substances in bony fish with special reference to the adrenal cortex and Corpuscles of Stannius of the eel (*Anguilla anguilla* L.). *Proc. 2nd Intern. Congr. Steroid Hormones. Milan. Excerpta Med.* **132**, 136-145.
- [26] I. CHESTER JONES, I.W. HENDERSON et W. MOSLEY (1964). — Methods for the adrenalectomy of the european eel (*Anguilla anguilla*). *J. Endocrin.* **30**, 155-156.
- [27] F.P. CONTE et D.H.Y. LIN (1967). — Kinetics of cellular morphogenesis in gill epithelium during sea water adaptation of *Oncorhynchus* (Walbaum). *Comp. Biochem. Phys.*, **23**, 945-957.
- [28] J. CRABBE (1967). — Studies on the mode of action of aldosterone. *Proc. 2nd Intern. Cong. Steroid Hormones. Milan, Excerpta Med.*, **132**, 487-491.
- [29] M. DHARMAMBA (1969). — Studies of the effects of hypophysectomy and prolactin on plasma osmolarity and plasma sodium in *Tilapia mossambica*. *Gen. Comp. Endocrin.* (sous presse).
- [30] M. DHARMAMBA, R.I. HANDIN, J. NANDI et H.A. BERN (1967). — Effect of prolactin on freshwater survival and on plasma osmotic pressure of hypophysectomized *Tilapia mossambica*. *Gen. Comp. Endocrin.*, **9**, 295-302.
- [31] M. DHARMAMBA et R.S. NISHIOKA (1968). — Response of "prolactin-secreting" cells of *Tilapia mossambica* to environmental salinity. *Gen. Comp. Endocrin.*, **10**, 409-420.
- [32] E.M. DONALDSON et J.R. MCBRIDE (1967). — The effects of hypophysectomy in the Rainbow trout *Salmo gairdnerii* (Rich) with special reference to the pituitary interrenal axis. *Gen. Comp. Endocrin.*, **9**, 93-101.
- [33] D.M. ENSOR et J.N. BALL (1968). — A bioassay for fish prolactin (*Paralactin*). *Gen. Comp. Endocrin.*, **11**, 104-110.
- [34] D.M. ENSOR et J.N. BALL (1968). — Prolactin and freshwater sodium fluxes in *Poecilia latipinna* (Teleostei). *J. Endocrin.*, *Proc. Soc. Endocrin.*, **41**, XVI.
- [35] F.H. EPSTEIN, A.I. KATZ et G.E. PICKFORD (1967). — Sodium and potassium adenosine triphosphatase of gills: Role in adaptation of teleosts to salt water. *Science*, **156**, 1245-1247.
- [36] F.H. FANESTIL et I.S. EDELMAN (1966). — On the mechanism of action of aldosterone on sodium transport: effects of inhibitors of RNA and protein synthesis. *Fed. Proc.*, **25**, 912-916.
- [37] M. FONTAINE (1964). — Corpuscles de Stannius et régulation ionique (Ca.K.Na) du milieu intérieur de l'anguille (*Anguilla anguilla*). *C.R. Acad. Sci. Paris*, **259**, 875-878.
- [38] M. FONTAINE (1967). — Intervention des Corpuscles de Stannius dans l'équilibre phosphocalcique du milieu intérieur d'un poisson téléostéen: l'Anguille. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **264**, 736-737.
- [39] M. FONTAINE, O. CALLAMAND et M. OLIVIEREAU (1949). — Hypophyse et euryhalinité chez l'Anguille. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **228**, 513-514.
- [40] M. FONTAINE et J. HATEY (1953). — Recherches sur le contrôle hypophysaire de l'interrenal antérieur d'un poisson téléostéen: l'Anguille (*Anguilla anguilla*). Variations pondérales de l'interrenal antérieur. *C.R. Soc. Biol.*, **147**, 217-220.

- [41] W. HANKE, K. BERGEROFF et D.K.O. CHAN (1967). — Histological observations on pituitary. A.C.T.H. cells, adrenal cortex and the Corpuscles of Stannius of the european eel (*Anguilla anguilla* L.). *Gen. Comp. Endocrin.*, **9**, 64-75.
- [42] H. HELLER et B.T. PICKERING (1961). — Neurohypophysial hormones of non-mammalian vertebrates. *J. Physiol.*, **155**, 98-114.
- [43] I.W. HENDERSON et I. CHESTER JONES (1967). — Endocrine influences on the net extrarenal fluxes of sodium and potassium in the european eel (*Anguilla anguilla*). *J. Endocrin.*, **37**, 319-325.
- [44] C.P. HICKMAN (1959). — The osmoregulatory role of the thyroid gland in the starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Am. J. Zool.*, **37**, 997-1060.
- [45] T. HIRANO (1967). — Effect of hypophysectomy on water transport in isolated intestine of the eel, *Anguilla japonica*. *Proc. Japan. Acad.*, **43**, 793-796.
- [46] T. HIRANO et S. UTIDA (1968). — Effects of A.C.T.H. and cortisol on water movement in isolated intestine of the eel (*Anguilla anguilla*). *Gen. Comp. Endocrin.*, **11**, 373-380.
- [47] W.S. HOAR (1957). — Endocrine organs, in "The physiology of fishes", M.E. Brown (Ed.), 245-285, Acad. Press, New York.
- [48] W.S. HOAR (1966). — Hormonal activities of the pars distalis in cyclostoms, fish and amphibia. in "The pituitary gland" (G.W. Harris and B.T. Donovan, Eds). Vol. 1, Butterworth, London.
- [49] W.N. HOLMES et J.G. PHILLIPS (1965). — Adrenocortical hormones and electrolytes metabolism in birds. *Proc. 2nd Int. Congr. Endocrin. London, 1964. Excerpta Med. Int. Congr. Soc.* S. Taylor Ed., **83**, 158-161.
- [50] A. KEYS (1933). — The mechanism of adaptation to varying salinity in the Common eel and the general problem of osmotic regulation in fishes. *Proc. Roy. Soc. Lond. B.*, **112**, 184-199.
- [51] A. KEYS et E.N. WILLMER (1932). — "Chloride secreting cells" in the gills of fishes with special reference to the common eel. *J. Physiol. London*. **76**, 368-378.
- [52] F. KNOWLES et VOLLRATH (1966). — Neurosecretory innervation of the pituitary of the eel, *Anguilla* and *Conger*. I. Structure and ultrastructure of the neuro intermediate lobe under normal and experimental conditions. II. The structure and innervation of the pars distalis at different stages of the life-cycle. *Phil. Trans. Roy. Soc. London.*, **250**, 311-342.
- [53] B. LAHLOU (1967). — Excrétion rénale chez un poisson euryhalin, le flet (*Platichthys flesus* L.). Caractéristiques de l'urine normale en eau douce et en eau de mer et effets des changements de milieu. *Comp. Biochem. Physiol.*, **20**, 925-938.
- [54] B. LAHLOU et A. GIORDAN (1970). — Le contrôle hormonal des échanges et de la balance de l'eau chez le téléostéen d'eau douce *Carassius auratus*, intact et hypophysectomisé. *Gen. Comp. Endocrin.* (sous presse).
- [55] P. LAURENT (1967). — La pseudobranchie des téléostéens, preuves électrophysiologiques de ses fonctions chemoréceptrices et baroréceptrices. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **267**, 1879-1882.
- [56] J.F. LEATHERLAND et T.J. LAM (1969). — Effect of prolactin on the density of mucus cells on the gills filaments of the marin form (*Trachurus*) of the threespine stickle back *Gasterosteus aculeatus*. *Can. J. Zool.*, **47**, 787-792.
- [57] J. LELOUP-HATEY (1964). — Etude du déterminisme de l'activation de l'interrenal antérieur observée chez quelques téléostéens soumis à un accroissement de la salinité du milieu ambiant. *Arch. Sci. Physiol.*, **18**, 293-324.
- [58] J. LELOUP-HATEY (1964). — Fonctionnement de l'interrenal antérieur de deux téléostéens, le saumon atlantique et l'anguille européenne. *Ann. Inst. Océanog. Monaco*, **42**, 221-238.
- [59] J. LELOUP-HATEY (1966). — Etude *in vitro* de la corticostéroïdogénèse dans l'interrenal de l'anguille européenne (*Anguilla anguilla* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **19**, 63-74.
- [60] J. MAETZ (1956). — Les échanges de sodium chez le poisson *Carassius auratus* L. Action d'un inhibiteur de l'anhydrase carbonique. *J. Physiol., Paris*, **48**, 1085-1099.
- [61] J. MAETZ (1964). — Recherches sur la perméabilité aux électrolytes de la branchie des poissons et sa régulation endocrinienne. *Bull. Inform. Sci. Tech. (C.E.A.)*, **86**, 11-70.
- [62] J. MAETZ (1968). — Salt and water metabolism in "Perspectives in Endocrinology" (E.J.W. Barrington and C. Barker-Jørgensen, Eds), Acad. Press, N.Y.
- [63] J. MAETZ (1969). — Observations on the role of the pituitary interrenal axis in the ion regulation of the eel and other teleosts. *Gen. Comp. Endocrinol., suppl.* **2**, 299-316.
- [64] J. MAETZ, J. BOURGUET et B. LAHLOU (1964). — Urolyse et osmoregulation chez *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrin.*, **4**, 401-414.
- [65] J. MAETZ, J. BOURGUET, B. LAHLOU et J. HOURDRY (1964). — Peptides neurohypophysaires et osmorégulation chez *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrin.*, **4**, 508-522.
- [66] J. MAETZ, N. MAYER et M.M. CHARTIER-BARADUC (1967). — La balance minérale du sodium chez *Anguilla anguilla* en eau douce, en eau de mer et au cours du transfert d'un milieu à l'autre : effets de l'hypophysectomie et de la prolactine. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **8**, 177-188.
- [67] J. MAETZ, R. MOTAIS et N. MAYER (1969). — Isotopic kinetic studies on the endocrine control of teleostean ionoregulation. *Progress in Endocrinology*, Prod. 3rd Int. Cong. Endocrinology Mexico, 1968. *Excerpta Med. Ser. N° 184*, 225-232.
- [68] J. MAETZ, J. NIBELLE, M. BORNANCIN et R. MOTAIS (1969). — Action sur l'osmorégulation de l'anguille de divers antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines ou du renouvellement cellulaire. *Comp. Biochem. Physiol.*, **30**, 1125-1151.
- [69] J. MAETZ, W.H. SAWYER, G.E. PICKFORD et N. MAYER (1967). — Evolution de la balance minérale du sodium chez *Fundulus heteroclitus* au cours du transfert d'eau de mer en eau douce : effets de l'hypophysectomie et de la prolactine. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **8**, 163-176.

- [70] J. MAETZ et E. SKADHAUGE (1968). — Drinking rate and gill ionic turnover in relation to external salinities in the eel. *Nature*, **217**, 371-373.
- [71] N. MAYER et J. MAETZ (1967). — Axe hypophyso-interrénalien et osmorégulation chez l'anguille en eau de mer. Etude de l'animal intact avec notes sur les perturbations de l'équilibre minéral produites par l'effet de « choc ». *C.R. Acad. Sci. Paris*, **264**, 1632-1635.
- [72] N. MAYER, J. MAETZ, D.K.O. CHAN, M. FOSTER et I. CHESTER JONES (1967). — Cortisol, a sodium excreting factor in the eel (*Anguilla anguilla* L.). Adapted to seawater. *Nature*, **214**, 1118-1120.
- [73] N. MAYER et J. NIBELLE (1969). — Sodium space in freshwater and sea water eels. *Comp. Biochem. Physiol.*, **31**, 589-597.
- [74] N. MAYER et J. NIBELLE (1970). — Evolution de la balance minérale chez l'anguille (*Anguilla anguilla* L.) après modification de la salinité externe et après infusion intravasculaire (sous presse).
- [75] R. MOTAIS (1967). — Les mécanismes d'échanges ioniques branchiaux chez les Téléostéens. *Ann. Inst. Océanogr. Monaco XLV* (1) : 1-84.
- [76] R. MOTAIS, R. GARCIA ROMEU et J. MAETZ (1966). — Exchange diffusion effect and euryhalinité in Teleosts. *J. Gen. Physiol.*, **50**, 391-422.
- [77] R. MOTAIS et J. MAETZ (1964). — Action des hormones neurohypophysaires sur les échanges de sodium (mesures à l'aide du radiosodium ^{24}Na) chez un téléostéen euryhalin *Platichthys flesus* L. *Gen. Comp. Endocrin.*, **4**, 210-224.
- [78] R. MOTAIS et J. MAETZ (1965). — Comparaison des échanges de sodium chez un téléostéen sténohalin (le Serran) en eau de mer. Importance relative du tube digestif et de la branchie dans ces échanges. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **261**, 532-535.
- [79] M. OLIVEREAU (1965). — Action de la métopirone chez l'anguille normale et hypophysectomisée, en particulier sur le système hypophyso-corticosurrénalien. *Gen. Comp. Endocrin.*, **5**, 109-128.
- [80] M. OLIVEREAU (1966). — Effet d'un traitement par le cortisol sur la structure histologique de l'interrénal et quelques tissus de l'anguille. *Annales d'endocrinologie*, **27**, 549-560.
- [81] M. OLIVEREAU et J.N. BALL (1964). — Contribution à l'histophysiologie de l'hypophyse des téléostéens en particulier de celle de *Poecilia* species. *Gen. Comp. Endocrin.*, **4**, 523-532.
- [82] M. OLIVEREAU et M.M. CHARTIER-BARADUC (1965). — Aldactone et osmorégulation chez l'anguille. *C.R. Soc. Biol.*, **159**, 1498-1503.
- [83] M. OLIVEREAU et M.M. CHARTIER-BARADUC (1966). — Action de la prolactine chez l'anguille intacte et hypophysectomisée. II. Effet sur les électrolytes plasmatiques (Na, K, Ca). *Gen. Comp. Endocrin.*, **7**, 27-36.
- [84] M. OLIVEREAU et H. FROMENTIN (1954). — Influence de l'hypophysectomie sur l'histologie de l'interrénal antérieur de l'anguille (*Anguilla anguilla* L.). *Ann. Endocrinol.*, **15**, 805-826.
- [85] M. OLIVEREAU et J. OLIVEREAU (1968). — Effets de l'interrénalectomie sur la structure histologique de l'hypophyse et de quelques tissus de l'anguille. *Zeit. Zell.*, **84**, 44-58.
- [86] K. OSHIMA, W.E. HAHN et A. GORBMAN (1969). — Olfactory discrimination of natural water by Salmon. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **26**, 2111-2121.
- [87] A.G.E. PEARSE et A.F. CARVALHEIRA (1967). — Cytochemical evidence for an ultimo-branchial origin of rodent thyroid C. cells. *Nature, Lond.*, **214**, 929-930.
- [88] G.E. PICKFORD (1953). — The hypophysectomized male killifish. *Bull. Bingham. Oceanog. Coll.*, **14**, 5-41.
- [89] G.E. PICKFORD, P.K.T. PANG, E. WEINSTEIN, J. TORRETTI, E. HENDLER et F.H. EPSTEIN (1969). — The response of the hypophysectomized cyprinodont, *Fundulus heteroclitus*, to replacement therapy with cortisol : effects on blood serum and sodium potassium adenosine triphosphatase in the gills, kidney and intestinal mucosa. *Gen. Comp. Endocrin.* (sous presse).
- [90] G.E. PICKFORD et J.G. PHILLIPS (1959). — Prolactin, a factor in promoting survival of hypophysectomized killifish in freshwater. *Science*, **130**, 454-455.
- [91] G.E. PICKFORD, E.E. ROBERTSON et W.H. SAWYER (1965). — Hypophysectomy, replacement therapy and the tolerance of the euryhaline killifish, *Fundulus heteroclitus* to hypotonic media. *Gen. Comp. Endocrin.*, **5**, 160-180.
- [92] W.T.W. POTTS et D.H. EVANS (1966). — The effects of hypophysectomy and bovine prolactin on salt fluxes in freshwater — adapted *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.* **131**, 362-368.
- [93] P. RASQUIN (1951). — Effect of carp pituitary and mammalian A.C.T.H. in the endocrine and lymphoid system of the teleost. *Astyanax mexicanus*. *J. Exp. Zool.*, **117**, 258-317.
- [94] P. RASQUIN et L. ROSENBLOOM (1954). — Endocrine imbalance and tissus hyperplasia in teleosts maintained in darkness. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, **104**, 358-426.
- [95] M. SAGE (1968). — Responses to osmotic stimuli of *Xiphophorus*. Prolactin cells in organ culture. *Gen. Comp. Endocrin.*, **10**, 70-74.
- [96] T. SANDOR, G.P. WINSON, I. CHESTER JONES, I.W. HENDERSON et B.J. WHITEHOUSE (1966). — Biogenesis of corticosteroids in the european eel *Anguilla anguilla*. *J. Endocrin.*, **34**, 105-115.
- [97] W.H. SAWYER (1966). — Diuretic and natriuretic responses of the lungfish (*Protopterus aethiopicus*) to arginine vasotocin. *Am. J. Physiol.*, **210**, 191-197.
- [98] M.P. SCHREIBMAN et K.D. KALLMAN (1966). — Endocrine control of freshwater tolerance in Teleosts. *Gen. Comp. Endocrin.*, **6**, 144-155.
- [99] G.W. SHARP et A. LEAF (1966). — Mechanism of action of aldosterone. *Physiol. Rev.*, **46**, 593-633.
- [100] G.W. SHARP et A. LEAF (1966). — Studies on the mode of action of aldosterone. *Recent Progress Horm. Res.*, **22**, 431-466.
- [101] B.M. SHARRATT, D. BELLAMY et I. CHESTER JONES (1964). — Adaptation of the silver eel (*Anguilla anguilla* L.) to sea water and to artificial media together with observations on the role of the gut. *Comp. Biochem. Physiol.*, **11**, 19-30.

- [102] B.M. SHARRAT, I. CHESTER JONES et D. BELLAMY (1964). — Water and electrolyte composition of the body and renal function of the eel (*Anguilla anguilla* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **11**, 9-18.
- [103] E. SKADHAUGE (1969). — The mechanisms of salt and water absorption in the intestine of the eels (*Anguilla anguilla*) adapted to waters of various salinities. *J. Physiol. Lond.*, **204**, 135-158.
- [104] H.W. SMITH (1930). — The absorption and excretion of water and salts by marine teleosts. *Am. J. Physiol.*, **93**, 480-505.
- [105] J.G. STANLEY et W.R. FLEMING (1966). — Effect of hypophysectomy on the function of the kidney of the euryhaline teleost *Fundulus kansae*. *Biol. Bull.*, **130**, 430-441.
- [106] J.G. STANLEY et W.R. FLEMING (1966). — The effect of hypophysectomy on sodium metabolism of the gill and kidney of *Fundulus kansae*. *Biol. Bull.* **131**, 155-165.
- [107] J.G. STANLEY et W.R. FLEMING (1967). — Effect of prolactin and A.C.T.H. on the serum and urine sodium levels of *Fundulus kansae*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **20**, 199-208.
- [108] R.W. TURKINGTON (1968). — Hormone-induced synthesis of DNA by mammary gland *in vitro*. *Endocrinology*, **82**, 540-546.
- [109] R.W. TURKINGTON (1968). — Induction of milk protein synthesis by placental lactogen and prolactin *in vitro*. *Endocrinology*, **82**, 575-583.
- [110] S. UTIDA, I. HIRANO, M. OIDE, M. KAMIYA S. SAISYU et H. OIDE (1966). — Na⁺-K⁺ activated adenosine triphosphatase in gills and Cl⁻ activated alkaline phosphatase in intestinal mucosa with special reference to salt adaptation of eel. *Abs. Proc. 11th Pacific Sci. Cong. Tokyo*. Vol. **7**, Symp. N° 55, p. 5.
- [111] S. UTIDA, M. OIDE, SAISHU et M. KAMIYA (1967). — Préétablissement du métabolisme d'adaptation à l'eau de mer dans l'intestin et les branchies de l'anguille argentée au cours de sa migration catadrome. *C.R. Sé. Soc. Biol.*, **161**, 1201-1204.
- [112] P.G.W.J. VAN OORDT (1968). — The analysis and identification of the hormone producing cells of the adenohypophysis. in "Perspectives in Endocrinology" (E.J.W. Barrington and C.B. Jørgensen, Eds), Acad. Press. N.Y.
- [113] F.F. VARGAS et J.B. CONCHA (1957). — Fisiología de las glándulas adrenales en el Teleosteo. *Invest. Zool. Chili*, **3**, 88-95.

Vu et approuvé

Paris, le 13 Avril 1970

Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Paris

Marc ZAMANSKY

Vu
et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

Robert MALLET

